

Zur Frage der Zuckerbildung aus Eiweiss.

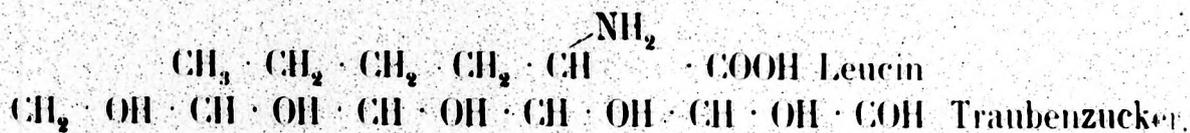
Von
Prof. Dr. **Rudolf Cohn.**

(Aus dem Laboratorium für Pharmakologie und med. Chemie zu Königsberg i. Pr.)

(Der Redaction zugegangen am 7. Juli 1899.)

Das Postulat der Physiologie, der Nachweis des Modus der Zuckerbildung aus Eiweiss im Thierkörper, ist bisher nicht erfüllt worden. Zwar ist es in letzter Zeit mehrfach gelungen, aus Eiweiss resp. bestimmten Eiweissverbindungen Zucker abzuspalten, aber selbst wenn dieser Zucker aus dem eigentlichen Eiweissmolekül stammt, so sind doch die Mengen, die man erhalten hat, so gering, dass sie die sehr grossen Quantitäten Zucker, die im Stoffwechsel aus Eiweiss entstehen müssen und die nach manchen Berechnungen 60% und mehr betragen können, absolut nicht erklären. Sieht man sich nun die einzelnen Stücke, aus denen das Eiweissmolekül, wie die zahlreichen Spaltungsversuche ergeben haben, zusammengesetzt ist, daraufhin an, welches am geeignetsten sein könnte, als Quelle für den Zucker zu dienen, so kommt hierfür am meisten in Betracht das Leucin, und die Vermuthung, dass dieses zu der Zuckerbildung in Beziehung stehen möchte, ist vor Kurzem auch schon von anderer Seite ausgesprochen worden (Müller und Seemann): eine experimentelle Prüfung der Frage ist aber, so weit mir bekannt, bisher nicht in Angriff genommen worden. Nicht nur ist das Leucin das Hauptspaltungsprodukt des Eiweisses — wie meine Versuche ergeben haben, kann man wohl 50%

und vielleicht noch mehr aus Casein gewinnen —, sondern ein Vergleich der Constitution desselben mit derjenigen des Traubenzuckers ergibt sofort nahe Beziehungen beider zu einander.



Der Thierkörper bedürfte, um Leucin in Traubenzucker überzuführen, gar nicht einmal complicirter Synthesen, sondern es handelte sich nur um Oxydationen, Abspaltung der Amidogruppe und Reduction, d. h. dreier Processe, die derselbe nach den vorliegenden Thatsachen sehr wohl auszuführen vermag.

Nun dürfte allerdings der Nachweis der direkten Umwandlung des Leucins in Zucker bei der leichten Verbrennlichkeit des letzteren im Organismus mit grossen Schwierigkeiten verbunden sein, ich glaubte daher von vornherein einen anderen, mehr indirekten Weg wählen zu sollen, der meiner Meinung nach leichter zum Ziele führen könnte. Wenn es nämlich gelänge, nachzuweisen, dass Leucin in Glycogen umgewandelt wird, so dürfte, da dieses doch in Zucker übergeht, der Schluss gerechtfertigt sein, dass das Leucin die Quelle des Zuckers ist und dass es dann also auch bei der Entstehung von Zucker aus Eiweiss eine Rolle, vielleicht die Hauptrolle spielt. Zu den Versuchen, die ich zur Prüfung der Frage vorgenommen habe und über die ich in Folgendem berichten will, diente mir ein Theil der grossen Leucimmengen, die ich in den letzten Jahren bei meinen Eiweisspaltungsversuchen gesammelt habe.

Versuch I.

2 kräftige, ziemlich gleich grosse Kaninchen hungern 4 $\frac{1}{2}$ Tage. Sie bekommen nur Wasser ad libitum. Das eine Thier erhält Abends 7 Uhr 20 g noch nicht ganz reines Leucin, das aber jedenfalls frei von andern Amidosäuren war, in circa 200 ccm. Wasser gelöst, dem zur Abstumpfung der Säure Na_2CO_3 bis zur schwach alkalischen Reaction zugesetzt war, mittelst Schlundsonde auf ein Mal in den Magen gegossen.

Am nächsten Vormittag 11 $\frac{1}{4}$ resp. 11 $\frac{1}{2}$ Uhr wurden die Lebern der beiden Thiere nach der Kütz'schen Methode

auf Glycogen verarbeitet. Die Leber des Leucinkaninchens wog 45 g, die des Kontrollthieres 65 g. Erstere enthielt 2,0702 g Glycogen (dasselbe war N-frei und enthielt nur 0,0018 g Asche) = 4,6^o/_o, während die Leber des Kontrollthieres nur 0,7529 = 1,16^o/_o Glycogen lieferte, d. i. zu Gunsten des Leucinkaninchens 3,44^o/_o.

Bei der Section erwiesen sich Magen und der ganze Darm des Leucinkaninchens schwappend mit Flüssigkeit gefüllt. Der Darm war beim schnellen Eröffnen der Bauchhöhle, da ich auf die pralle Füllung nicht vorbereitet war, angeschnitten worden und der Inhalt grösstentheils in die Bauchhöhle ausgelaufen. Aus dem filtrirten Mageninhalt war nach dem Eindampfen etwas Leucin zu erhalten. Ein Theil des stark mit Blut vermengten Darminhaltes wurde enteiwisst und das Filtrat zur Trockne verdampft. Der bräunliche Rückstand bestand zum grössten Theil aus Leucin. Wieviel Leucin von den verabreichten 20 g resorbirt worden war, liess sich in diesem Versuch nicht bestimmen, augenscheinlich war aber ein sehr grosser Antheil der Resorption entgangen.

Versuch II.

15 g chemisch reines Leucin (dasselbe schmolz bei 278^o, krystallisirte in sechseckigen Täfelchen) wurden mit 200 cem. Wasser gekocht, lösten sich aber selbst nach längerem Kochen nur theilweise auf. Erst auf Zusatz etwas reichlicherer Mengen Na₂CO₃ trat beim Kochen Lösung ein, aus der indess schon beim Abkühlen auf Körpertemperatur sich das Leucin wieder auszuschcheiden begann. Danach erwies sich also auch das Na-Salz als in Wasser schwerlöslich.

Die noch körperwarne Lösung wurde einem mittelgrossen Kaninchen, das 8 Tage gehungert hatte, mit der Schlundsonde eingegossen. Vor beendeter Eingiessung starb das Kaninchen jedoch plötzlich. Eine Todesursache konnte durch die Section nicht nachgewiesen werden. Wahrscheinlich war das Thier durch das lange Hungern so geschwächt, dass es die starke Anfüllung des Magens nicht vertrug.

Versuch III.

Ich beabsichtigte zunächst wieder, chemisch reines Leucin anzuwenden, es war aber nicht möglich, dasselbe in genügender Menge in nicht zu viel Wasser in Lösung zu bringen. 15 g wurden mit 220 cem. Wasser gekocht, allmählich noch 40 cem. kalt gesättigter Na_2CO_3 -Lösung zugefügt; trotz längeren Kochens ging nicht alles in Lösung und beim Abkühlen schied sich ein erheblicher Theil wieder aus.

Ich gab nun einem kräftigen Kaninchen nach 4-tägigem Hungern ca. 30 g Leucin. Es wurden zu dem Zwecke 50 g noch etwas unreines Leucin, das nach dem Ausfall der Millon'schen Reaction nur geringe Mengen Tyrosin enthalten konnte, mit 200 cem. Wasser gekocht und, ohne dass sich alles gelöst hatte, zum Abkühlen 6 Stunden stehen gelassen, darauf die hellbraune Lösung abgegossen. Dieselbe, 220 cem., wird mit 20 cem. kalt gesättigter Na_2CO_3 -Lösung bis zu neutraler Reaction versetzt und davon ca. 180 cem. dem Kaninchen eingegossen. Etwa 10 cem. werden fractionirt eingedampft, um sich von der Reinheit des verabreichten Leucins zu vergewissern. Es war nur reines Leucin daraus zu isoliren. Der Rest der Lösung wurde mit dem nach dem Abkühlen ausgeschiedenen Antheil vereinigt und zur Trockne verdampft. Es blieben 20 g, das Kaninchen hat also, wie angegeben, ca. 30 g Leucin erhalten.

Die Leber des am nächsten Vormittag 10^{1/2} Uhr getödteten Kaninchens wog 57 g und ergab 1,2505 Glycogen = 2,3% o, während die Leber eines gleichzeitig auch 4 Tage hungernden Kaninchens 62 g wog und 1,1156 g Glycogen = 1,8% o enthielt. Die nur geringe Differenz in dem Glycogengehalt beider Thiere, allerdings auch zu Gunsten des Leucinkaninchens, ist aber vielleicht dadurch bedingt gewesen, dass durch ein Versehen der mit Aetzkali versetzte Leberbrei des Leucinkaninchens zu weit eingedampft wurde, er bildete eine dicke Masse, ein grosser Theil war am Rande der Schaaale fest eingetrocknet, sodass ich diese Glycogenbestimmung nicht als zuverlässig ansehen kann.

Versuch IV.

Ein kräftiges Kaninchen, das 7 Tage gehungert hatte, erhält Abends Leucin. Ich nahm diesmal 24 g chemisch reines Leucin, das ich in fein geriebenem Zustande mit 250 cem. Wasser so lange verrührte, bis alles benetzt war, dann fügte ich einige Cubikcentimeter Olivenöl und etwas Na_2CO_3 zu und schüttelte das Gemenge in einer Flasche. Es bildete sich eine haltbare Emulsion. Von ihr wurden dem Kaninchen in 2 Portionen um 6 Uhr 150 cem. und um 7 Uhr 50 cem. eingegossen. Aus dem übrig gebliebenen Rest wurden nach Entfernung des Oels durch Aether 8 g Leucin durch Eindampfen zurückgewonnen. Das Kaninchen bekam also 16 g Leucin. Am nächsten Vormittag 10 $\frac{1}{2}$ Uhr wurde es getödtet und die Leber, welche 52 g wog, auf Glycogen verarbeitet. Sie lieferte 1,0846 g = 2,1 $\frac{1}{2}$ %.

Ich machte nun den Versuch, das im Magendarmkanal zurückgebliebene Leucin möglichst quantitativ zu bestimmen, um so einen Anhalt zu gewinnen für die wirklich resorbirte Menge. Im Magen war noch sehr viel Flüssigkeit enthalten, gemengt mit geringen Futterresten. Der ganze Darm, besonders der Dickdarm, war wiederum prall mit Flüssigkeit gefüllt. Der Mageninhalt wurde nach dem Aufschneiden besonders gesammelt, der Inhalt des Dünndarmes durch Streichen mit den Fingern entfernt, der des Dickdarmes durch Aufschneiden und Abspülen mit wenig Wasser wiederum besonders gewonnen. Der Mageninhalt wurde reichlich mit Wasser verdünnt, gekocht, ca. die Hälfte abfiltrirt. Nach dem Eindampfen hinterblieben 4 g fast reines Leucin. Die nicht durchfiltrirte Hälfte wurde nochmals mit Wasser verdünnt, gekocht, das Filtrat, das nur bis etwa zur Hälfte gewonnen werden konnte, da das Filtriren stockte, hinterliess nach dem Eindampfen 1 g Leucin. Der Magen enthielt also ungefähr 6 g Leucin. Der Dünndarminhalt wurde enteewisst, das Filtrat ergab 0,5 g Leucin. Der Dickdarminhalt, ca. 300 cem., wurde noch mit Wasser verdünnt, mit viel Kieselguhr geschüttelt und ca. die Hälfte abfiltrirt. Das dunkelbraun gefärbte Filtrat hinterliess beim Einengen

einen braunen Rückstand, in dem sich reichlich Leucinkrusten absetzten. Eine quantitative Isolirung des Leucins daraus erschien aussichtslos. Der Rückstand wurde zur Trockne verdampft, zweimal mit absolutem Alkohol ausgekocht, die vereinigten Filtrate auf etwa 20 ccm. eingeeengt: es scheidet sich 0,5 g fast reines Leucin aus. Der von dem kochenden Alkohol nicht aufgenommene Rückstand wog trocken 5,5 g. Sie wurden in Wasser gelöst, die Lösung wurde durch Thierkohle nur sehr wenig entfärbt, das Filtrat erstarrte beim Einengen zu einem sehr dicken Krystallbrei. Eine Probe davon, auf einer Thonplatte abgesogen, hinterliess einen fast farblosen Rückstand, der fast vollständig sublimirte. Das Sublimat schmolz bei 275°. Nach ungefährrer Schätzung dürfte wohl mindestens die Hälfte von den 5,5 g aus Leucin bestanden haben. Danach enthielt also der Dickdarm ungefähr $(0,5 + 2,75) \cdot 2 = 6,5$ g Leucin. Rechnet man alles zusammen, so können jedenfalls nur wenige Gramm Leucin resorbirt sein.

Versuch V.

Von 2 mittelgrossen Kaninchen, die 6 Tage gehungert hatten, erhält das eine eine in folgender Weise hergestellte Leucinlösung innerlich: 48 g noch etwas unreines Leucin werden mit 180 ccm. Wasser gekocht und 30 ccm. kalt gesättigter Lösung von Na_2CO_3 zugefügt. Nachdem noch einige Zeit im Sieden erhalten war, wird nach dem Abkühlen von dem Ungelösten abfiltrirt. Der ungelöste Rückstand wiegt nach dem Trocknen bei 100° 22 g. Die Lösung enthält also 26 g Leucin. Es sind 200 ccm. einer hellbraunen, durchsichtigen, schwach alkalischen Lösung von nicht laugenhaftem Geschmack, die dem Kaninchen in 3 Portionen Abends um 5 $\frac{1}{4}$, 6 und 6 $\frac{1}{2}$ Uhr mittelst Schlundsonde eingegossen wurden. Dieses Vorgehen wurde gewählt in der Annahme, dass die Resorption besser von Statten gehen würde, wenn der Magen nicht so stark von der grossen Quantität Flüssigkeit angefüllt werden würde, wie in den früheren Versuchen.

Am nächsten Morgen sind beide Kaninchen sehr schwach. Sie werden um 10 Uhr getödtet und die Lebern schnell auf

Glycogen verarbeitet. Die Leber des Leucinkaninchens wog 82 g: sie lieferte 2,3213 g Glycogen = 2,8% . Dasselbe war N-frei.

Die Leber des Kontrollthieres, die 70 g wog, enthielt nur minimale Spuren Glycogen.

Die Versuche haben also eine unzweifelhafte Glycogenbildung nach der Leucidarreichung ergeben, wie aus folgender Zusammenstellung ersichtlich ist.

Versuch	Hungertage	Glycogengehalt der Leber		Glycogengehalt der Leber in %	
		Leucinthier	Kontrollthier	Leucinthier	Kontrollthier
I	4½	2,0702 g	0,7529 g	4,6	1,16
III	4	1,2505 > ?	1,1156 >	2,3 ?	1,8
IV	7	1,0846 >	—	2,1	—
V	6	2,3213 >	Spuren	2,8	—

Rechne ich dazu das in den Muskeln jedenfalls noch enthaltene Glycogen, das ich nicht bestimmt habe, so sind die Gesamtglycogenmengen so gross, dass sie kaum anders, als durch eine direkte Umwandlung des Leucins in Glycogen erklärt werden können. Dass sie nicht noch grösser sind, liegt an der merkwürdig schlechten Resorbirbarkeit des Leucins im Kaninchendarm. Wir können aus diesem Grunde und auch weil wir wegen der Schwerlöslichkeit des Leucins nicht grössere Mengen verabreichen können, nicht so grosse Mengen Glycogen zu finden erwarten, als wenn wir den Organismus mit grossen Mengen des leicht resorbirbaren Traubenzuckers überschwemmen. Ob sich in Bezug auf die Resorption des Leucins andere Thierklassen günstiger verhalten und ob es dann bei diesen gelingt, unzweideutigere Resultate zu erhalten, soll noch untersucht werden.

Ich bin mir sehr wohl bewusst, dass meine Versuche die in Rede stehende Frage, ob das Leucin die Zwischenstufe bei der Entstehung des Zuckers aus Eiweiss im Thierkörper ist, noch nicht endgültig entschieden haben, wengleich die höchste Wahrscheinlichkeit dafür spricht: die Versuche müssten dazu noch auf breiterer Grundlage ausgeführt werden. Vor Allem müsste auch das Verhältniss der andern, bei der Spaltung des

Eiweisses resp. Leims entstehenden Amidosäuren zur Glycogenbildung untersucht werden. Asparaginsäure und Glycocoll, welche auch Glycogenbildner sind, kommen schon wegen der quantitativen Verhältnisse bei der Zuckerbildung im Thierkörper weniger in Betracht, während die in sehr grossen Mengen bei der Eiweisspaltung auftretende Glutaminsäure bisher, soviel ich weiss, noch nicht daraufhin geprüft worden ist, was ich demnächst zu thun gedenke.