

Das Verhalten von Glukosamin und Chitose im Tierkörper.

Von

Dr. Provan Cathcart (Glasgow).

Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts zu Berlin.

Der Redaktion zugegangen am 11. August 1903.

Das Verhalten der Zuckerarten im Organismus, speziell ihr Übergang in Glykogen war von jeher Gegenstand eingehendsten Interesses. Dieses Interesse hat sich noch bedeutend gesteigert, seitdem entdeckt worden war, daß es nicht allein die verhältnismäßig kleine Klasse der gärungs-fähigen Zucker ist, die Anlaß zur Bildung von Glykogen gibt.

E. Salkowski¹⁾ wies erst ganz neuerdings dessen Bildung nach bei Verfütterung einer Pentose und zwar der l-Arabinose. Obgleich Neuberg und Wohlgemuth²⁾ nach Anwendung der d- und r-Arabinose stets negative Resultate hatten, so wies doch Wohlgemuth³⁾ nach, daß sich stets Bildung von Glykogen ergab nach Anwendung einer der Heptosen, nämlich der a-Glukoheptose. Vorher schon hatte M. Cremer⁴⁾ mit derselben Substanz experimentiert, wenn auch mit negativen Resultaten, die wahrscheinlich auf die geringe Quantität der Glukoheptose, die verwendet wurde, zurückzuführen sind.

Des weiteren haben C. Neuberg und P. Mayer gezeigt, daß die Zahl der der Glykogenbildung fähigen Zuckerarten größer ist, als man früher annahm, indem sie auch nach Verfütterung von l- (sowie i-) Mannose Glykogenbildung feststellten.

Von besonderem Interesse ist das Verhalten von Glukosamin, nachdem sich dasselbe als ein oft in verhältnismäßig großer Quantität auftretendes Spaltungsprodukt vieler Eiweißkörper ergeben hat. Hierüber liegen Versuche von Offer und Fränkel⁵⁾ und von Fabian⁶⁾ vor, wobei in beiden Fällen die Salzsäureverbindung des Glukosamins verwendet wurde. Beide Reihen

von Experimenten ergaben stets völlig negative Resultate, soweit dabei die Bildung von Glykogen in Betracht gezogen wurde. Wie schon bemerkt, war das Glykosamin stets in Form eines seiner Salze verwendet worden, es war von großem theoretischen Interesse, zu sehen, was für Resultate erzielt werden würden bei Anwendung von freiem Glukosamin.

Dem einmal ist das freie Glukosamin im Gegensatz zu dem äußerst beständigen Chlorhydrat eine sehr labile Verbindung, die z. B. leicht unter NH_3 -Abspaltung in N-freies Produkt übergeht, sowie nach Lobry de Bruyn unter Atomwanderung von selbst eine Substanz liefert, die identisch ist mit dem d-Fruktosamin, d. h. dem Ammoniakadditionsprodukt des sicher Glykogen bildenden Fruchtzuckers. Andererseits ist möglicherweise die physiologische Rolle des freien Glukosamins — und man muß doch annehmen, daß dieses und nicht ein Salz beim Abbau des Eiweißes im Organismus auftritt — eine ganz andere, als die des resistenten salzsauren Glukosamins. Auch die Möglichkeit einer beständigeren tautomeren Formel der Glukosaminsalze, etwa



oder



oder



ist in Betracht zu ziehen.

Demgemäß wurde Chitosaminchlorhydrat, das nach der Methode von Ledderhose dargestellt war, mit methylalkoholischer Natriummethylatlösung nach dem Verfahren von Lobry de Bruyn und Ekenstein⁷⁾ behandelt. Da freies Chitosamin nicht besonders haltbar ist, wurde es vor jedem Experiment frisch hergestellt. Zu den beiden Experimenten, die mit freiem Chitosamin ausgeführt wurden, sind Kaninchen verwendet worden, die man 7 Tage lang hatte hungern lassen. Beim ersten Experiment erhielten die Tiere Wasser ad libitum. In beiden Fällen wurde die Bestimmung des Glykogens ausgeführt

nach der Methode Pflüger-Külz, und in beiden Fällen wurden Kontrolltiere verwendet.

Versuch I.

Beginn 1. Nov. Kaninchen I, Kontrolltier, gewogen am Anfang 2275 g, Kan. II am Anfang 2425 g. Nach 7tägigem Hungern, wobei die Tiere Wasser erhielten, soviel sie wollten, erhielt Kan. II am Abend des 7. Nov. mittels der Schlundsonde 3,30 g freies Chitosamin, gelöst in ca. 40 ccm Wasser. Am Vormittag des 8. Nov., also 16 Stunden nach Verwendung des Chitosamins, wurden beide Tiere getötet (dabei wog I 1900 g, also 375 g Gewichtsverlust; II 2100 g, Gewichtsverlust 325 g), die Lebern wurden so schnell als möglich entfernt, sofort zerkleinert und in kochendes Wasser gebracht. Darnach wurde das bekannte Verfahren der Fällung mit Brückes Reagens etc. ausgeführt. Leber von I = 56 g, die von II = 45 g. Da eine Verzögerung der Lösung der Leber mit 2%iger Kalilösung eintrat, wurde die Stärke des Kalis nach 5–6 Stunden auf 5% erhöht.

Resultat.

- I. (Kontrolltier) = 0,3719 g Glykogen
- II. (Versuchstier) = 0,2515 g

Versuch II.

Anfang 10. Nov. Kan. I wog zum Beginn 2900 g, II 3100 g. Nach 7tägigem Hungern, in diesem und allen folgenden Fällen völlig ohne Wasser, wurden dem Kan. I am Abend des 16. Nov. 4,5 g freies Chitosamin, gelöst in ca. 40 ccm Wasser, ebenfalls mit der Schlundsonde eingeflüßt. Am Vormittag des 17. Nov., ungefähr 17 Stunden nach der Injektion, wurden beide Tiere getötet (Kan. I 2100 g, Gewichtsverlust also 800 g; II 2500 g, Gewichtsverlust 600 g), die Lebern schnell entfernt und behandelt wie beim ersten Experiment, ausgenommen, daß sie zweimal mit Wasser gekocht wurden. Die Leber von Kan. I wog 60 g, von II 58 g.

Resultat.

- I. (Versuchstier) = 0,1208 g Glykogen
- II. (Kontrolltier) = 0,2937 g

Tafel I.

Quantität des Glykogens in den Lebern.

Experiment	Quant. des freien Chitosamins	Versuchstier	Kontrolltier
I	3,30 g	0,2515 g	0,3719 g
II	4,5	0,1208	0,2937

Wie man sieht, sind hier die Resultate denen von Offer und Fränkel und von Fabian ähnlich (s. o.), insofern sie durchaus negativ sind betreffs der Bildung von Glykogen. Bei beiden Experimenten, was auch immer die Erklärung dafür sein mag, fand sich eine Verminderung des Gehaltes an Glykogen in der Leber des Tieres, dem man das Glukosamin verabreicht hatte.

Obgleich obige beiden Versuche in bezug auf die Bildung von Glykogen ganz negativ waren, war es doch von Interesse, das Verhalten des Chitosesirups im tierischen Körper zu untersuchen. Die Chitose wurde aus Glukosaminchlorhydrat nach der Methode von Fischer und Tiemann dargestellt. Der in den folgenden Versuchen verwendete Chitosesirup war absolut frei von N. (Hier bin ich Herrn Dr. C. Neuberg, dem Assistenten des Laboratoriums, der mir eine zu den Versuchen ausreichende Quantität von ihm dargestellter Chitose überließ, zu besonderem Dank verpflichtet.)

Zur Bestimmung des Glykogens diente diesmal das von E. Salkowski⁸⁾ angegebene Verfahren der vorgängigen Extraktion mit Alkohol und Äther.

In den nunmehr ausgeführten Versuchen wurde auch die Menge der reduzierenden Substanz, die aus dem Magen- resp. Darminhalt (in getrennten Bestimmungen) mit Alkohol extrahiert werden konnte, bestimmt. Zur Ergänzung wurde bei Experiment Nr. 5 die Menge des Glykogens noch in einer abgewogenen Quantität Muskelsubstanz bestimmt.

Versuch III.

Begonnen am 21. November. Kaninchen I wog 1600 g, II 1500 g. Nach siebentägigem Hungern erhielt I 7 g freies Chitosamin, starb aber plötzlich unter Kollapserscheinungen.

Die Leber wurde sofort herausgeschnitten und ohne besondere Zerkleinerung in 96%igen Alkohol gelegt. Dieses Kaninchen diente in diesem Falle als Kontrolltier. Am nächsten Tage erhielt II 5 g Chitose per Schlundsonde, in ungefähr 25 ccm Wasser gelöst. Was die Bestimmung der Menge der Chitose in diesen und den folgenden Versuchen betrifft, so sei folgendes bemerkt: Nach früheren Ermittlungen von C. Neuberg reduziert möglichst wasserfreie Chitose Fehlingsche Lösung sehr annähernd ebenso stark wie Traubenzucker. Diese Beobachtung wurde zugrunde gelegt und der Gehalt der angewandten konzentrierten Chitoselösung durch Titrieren mit Fehlingscher Lösung ermittelt. Gewicht des Tieres beim Tode am nächsten Vormittage, ungefähr 17 Stunden nach der Injektion, war 1100 g, Gewichtsverlust also 400 g. Die Leber (30 g) wurde sogleich entfernt, gut zerkleinert und in 96%igen Alkohol getan. Magen- und Darminhalt wurde gesammelt und ebenfalls in 96%igen Alkohol getan. Nach einigen Tagen wurde filtriert, das Filtrat verdampft und das Residuum in Wasser aufgelöst.

Alkoholextrakt des Darminhaltes: 1,12% reduzierende Substanz. (Bestimmung nach Fehling.)

Alkoholextrakt des Mageninhaltes: Reduktion wurde nicht gefunden.

Nachdem der Leberbrei 3 Tage unter Alkohol gelegen hatte, wurde derselbe abfiltriert und durch Äther ersetzt. Am nächsten Tage wurde auch der Äther abfiltriert. Die Alkoholfiltrate und die des Äthers wurden in jedem Falle vereinigt, verdampft, das Residuum in Wasser aufgelöst. Um diesen wässrigen Extrakt geeigneter zum Titrieren zu machen, wurde erst eine geringe Quantität CaCl_2 zugesetzt und dann Na_2CO_3 , vom Präzipitat filtriert. Titriert nach Fehling ergab sich:

Extrakt der Leber (Chitose-tier): 0,14 g reduzierende Substanz,
 (Kontrolltier): 0,12

Die Leberrückstände wurden nun direkt in 2%iger Kalilauge aufgelöst und dann das gewöhnliche Verfahren für Glykogenbestimmung vorgenommen.

Resultat:

- I. Kontrolltier: 0,0150 g Glykogen,
 II. Chitose-tier: 0,3976 » »

Versuch IV.

Begonnen am 3. Dezember. Kaninchen I wog 1600 g, II ebenfalls 1600 g. Nach 6 $\frac{1}{2}$ Tagen Fasten erhielt II wie gewöhnlich 5 g Chitose, in ca. 10 ccm Wasser gelöst. Beide Tiere wurden am 10. Dezember vormittags getötet, ungefähr 16 Stunden nach der Injektion. I wog 1190 g = Verlust 410 g; II 1150 g = Verlust 450 g. Die Lebern wurden schnell entfernt, fein zerhackt und in 96%igen Alkohol gelegt. Leber I = 35 g, II = 40 g. Letztere, d. h. also die des Chitose-tieres, enthielt eine ganz bedeutende Zahl von Coccidien. Magen- und Darminhalt wie im vorhergehenden Experiment behandelt. Die Lebern wurden 2 Tage unter Alkohol und 1 Tag unter Äther gehalten. Sie wurden dann vom Äther abfiltriert, durch Aussetzen an der Luft getrocknet und dann mit 2%igem Kali gekocht.

Alkoholextrakt: Mageninhalt: nur leichte Reduktion nach Fehling.

Alkoholextrakt: Darminhalt: 0,32 g reduzierende Substanz als Glukose berechnet.

Alkoholätherextrakt der Leber:

- I. Kontrolltier: 0,065 g reduzierende Substanz,
 II. Chitose-tier: 0,088 » »

Glykogengehalt der Leber:

- I. Kontrolltier: 0,0241 g Glykogen,
 II. Chitose-tier: 0,0802 » »

Versuch V.

Begonnen am 9. Januar. Kaninchen I: 1550 g, II: 1410 g. Nach 7 Tagen Fasten erhielt I in bisheriger Weise 5 g Chitose in ca. 10 ccm Wasser. Beide Tiere erhielten dann Wasser. Am 17. Januar, also 16 Stunden später, wurden beide getötet. I wog 1160 g = Gewichtsverlust 390 g, II 1050 g = 360 g. Leber I = 35 g, II = 25 g. Beide wurden behandelt wie

bei den vorhergehenden Versuchen.¹⁾ Außer Magen- und Darminhalt beider Tiere (in diesem Fall beider Inhalt zusammengekommen) wurden 100 g gemischten Muskelfleisches, ebenfalls von beiden Tieren genommen, fein zerhackt, in 96%igen Alkohol gebracht und dann später mit Äther behandelt.

Alkoholextrakt: Magen-Darminhalt:

Chitose tier = 0,29 g (Fehling),

Kontrolltier = 0,08 » »

Alkoholätherextrakt des Muskels:

Chitose tier: 0,0353 g (Fehling),

Kontrolltier: 0,0304 » »

Glykogen:

Muskel (Chitose tier))
(Kontrolltier)) Spuren durch Gewicht nicht festzustellen.

Alkoholätherextrakt: Leber:

Chitose tier: 0,068 g (Fehling),

Kontrolltier: 0,057 » »

Glykogen: Leber:

Chitose tier: 0,1947 g

Kontrolltier: 0,1030 »

Tafel II.

Quantität des Glykogens in den Lebern.

Versuch	Menge der Chitose	Versuchstier	Kontrolltier
III	5 g	0,3976 g	0,0150 g
IV	5 »	0,0802 »	0,0244 »
V	5 »	0,1947 »	0,1030 »

Ist die Chitose imstande, Eiweiß zu ersparen?

Die Frage, ob die Chitose als ein «Eiweißsparer» beim Stoffwechsel wirkt, ist für die Beurteilung der physiologischen

¹⁾ Ein Versuch wurde hier gemacht, das Glykogen direkt aus der alkalischen Lösung zu fällen. Da aber die Mischung außerordentlich langsam filtrierte, wurde es für angebracht erachtet, zur alten Methode zurückzukehren. Demgemäß wurde zur alkoholischen Mischung Wasser hinzugefügt, um das gefällte Glykogen zu lösen; hierauf das Ganze bis ungefähr auf das ursprüngliche Volumen verdampft, angesäuert und wie üblich mit Brückes Reagens behandelt.

Rolle der Chitose von erheblichem Interesse. Es wurde hierüber eine Anzahl von Versuchen ausgeführt. Natürlich mußte, um für die Stickstoffausscheidung eine Norm zu erlangen, das Tier — ein Kaninchen — auf eine entsprechende Diät gesetzt werden, die soweit als möglich frei sein mußte von Kohlehydratsubstanzen. Die beste Nahrung würde wahrscheinlich die sogenannte Diabetesmilch gewesen sein, d. h. Milch, aus der die meiste Kohlehydratsubstanz entfernt ist. Da diese nicht gleich zu haben war, wurde eine Diät angenommen, die bestand aus 2 g Eucasin, mit Hilfe der Hitze in ungefähr 50 ccm Wasser gelöst. Dieser Lösung wurden nach Abkühlung 5 g reines Olivenöl zugesetzt. Dies wurde dem Tiere am Vormittage mittels Schlundsonde und Spritze eingegeben, am Nachmittage erhielt es wieder ungefähr 40 ccm reines Wasser. Um eine Art Kontrolle zu haben, womit man etwaige Resultate, die man erzielte, vergleichen könnte, wurde ein Versuch unter obigen Bedingungen ausgeführt, wobei jedoch Traubenzucker verwendet wurde.

Das Experiment wurde begonnen am 4. Februar, das Tier wog 2600 g. Die Quantität des ausgeschiedenen Stickstoffes wurde bestimmt als Total-N mittels der Kjeldahl-Methode. In der Regel wurde der Urin von einigen Tagen, d. h. von 2 bis 4 Tagen, vereinigt. Es wird hier von Interesse sein, zu bemerken, daß das Tier niemals spontan Harn ließ, bis auf die letzten 2 Tage des Versuches. In allen anderen Fällen mußte der Harn abgedrückt werden. Die Reaktion des Harnes war sauer. Das Befinden des Tieres war ziemlich gut. Es wurde jedesmal Kontrolle, sehr oft wiederholte Kontrolle, bei der N-Bestimmung ausgeführt.

Der Versuch fing am 4. Febr. an, am 13. Febr. erhielt das Tier 5 g Traubenzucker als Zusatz zur gewöhnlichen Eucasinmischung. Am 14. erhielt das Tier wieder 5 g Traubenzucker. Nach 11 Tagen, also 26. Februar, erhielt dasselbe Tier als Zusatz zur gewöhnlichen Mischung 5 g Chitose in ungefähr 20 ccm Wasser. Es mußte separat gegeben werden, da es sich mit der Mischung nicht gut vereinigte. Am 27. erhielt das Tier wieder wie vorher 5 g Chitose.

Die Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Harn vom	Anzahl der Tage	Harnmenge in Kubikzentimet.	N-Gehalt in Gramm	N-Gehalt pro Tag in Gramm	Körpergewicht in Gramm	Bemerkungen
4. II. 03.	1	64	0.927	0.927	Am 4. 2600	
5. 6. 7. II.	3	204	3.641	1.214	—	
8. u. 9. II.	2	98	2.064	1.032	Am 9. 2400	
10. u. 11. II.	2	125	1.557	0.779	—	
12. II.	1	60	0.613	0.613	—	
13. II.	1	75	0.693	0.693	Am 13. 2220	5 g Traubenzucker zur Nahrung
14. II.	1	98	1.162	1.162	—	5 g Traubenzucker zur Nahrung
15. 16. 17. II.	3	172	2.600	0.867	—	
20. — 23. II.	4	153	2.392 (?)	0.598 (?)	—	
24. u. 25. II.	2	160	2.650	1.325	Am 24. 1950	
26. II.	1	40	0.840	0.840	—	5 g Chitose zur Nahrung
27. II.	1	68	0.801	0.801	—	5 g Chitose zur Nahrung
28. II. — 1. III.	2	85	1.479	0.74	—	
2. 3. u. 5. III.	3	235	2.418	0.806	—	Der Harn am 4. ging verloren.
6. 7. 8. III.	3	220	2.862	0.954	Am 9. 1700	

Bezüglich der Tabelle sei noch bemerkt, daß Harn vom 4. den vom 4. vormittags 11 Uhr bis 5. 11 Uhr entleerten, d. h. durch Abpressen erhaltenen Harn bedeutet. Untersuchen wir nunmehr, was sich aus diesen Zahlen für den Traubenzucker und die Chitose ableiten läßt. Addieren wir die Werte für die Stickstoffausscheidung sämtlicher Tage, an welchen weder Traubenzucker noch Chitose gegeben wurde, so erhalten wir: Ausgeschieden sind 21,203 g N in 26 Tagen, also pro Tag 0.816 g. An den beiden Traubenzuckertagen sind ausgeschieden im Mittel 0,8995 g. Also ist eine Ersparnis nicht nachweisbar.

1) Der Harn vom 18. u. 19. konnte aus äußern Gründen nicht untersucht werden; die Fütterung hat jedoch in derselben Weise stattgefunden.

Nun ist der Wert für die 4 Tage vom 20.—23. etwas zweifelhaft. Es ist nicht sicher, ob hier die Harnmenge ganz erhalten worden ist. Schließen wir diese Tage aus, so sind 18,811 g in 22 Tagen erhalten = 0,905 g pro Tag. Die Ersparnis ist auch nicht sicher. Aber das ganze Verfahren der Berechnung ist anfechtbar. Ein Tier, das so erheblich an Gewicht abnimmt, muß an den späteren Tagen notwendig auch weniger Stickstoff ausscheiden, richtiger ist es also wohl, die N-Ausscheidung an den Traubenzuckertagen nur mit derjenigen zu vergleichen, welche vorher stattfand. Dann erhalten wir: An 9 Tagen sind ausgeschieden 8,802 g, also pro Tag 0,978 g. Demgegenüber bedeuten die 0,8995 g der Traubenzuckertage eine, wenn auch nur geringe Ersparnis. Natürlich würde das Resultat schlagender gewesen sein, wenn größere Mengen von Traubenzucker angewendet wären. Dies geschah aber absichtlich nicht, da von der Chitose nicht mehr als etwa 10 g zur Verfügung stand. Größere Mengen Traubenzucker anzuwenden, hätte also keinen Wert gehabt, da der Traubenzucker nur des Vergleiches wegen angewandt wurde. Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse für die Chitose. An den beiden Chitose Tagen ist im Mittel ausgeschieden 0,821 g: verglichen mit dem Gesamtmittel der 26 Tage = 0,816 g, würde sich also keine Ersparnis ergeben, verglichen mit dem Mittel der 22 Tage unter Fortlassung der 4 zweifelhaften = 0,905 g, eine geringe Ersparnis. Am richtigsten ist es wohl, nur die N-Ausscheidung am 24., 25., 28/II. und vom 2., 3., 5., 6., 7., 8./III. zum Vergleich zu benutzen. Dann haben wir eine N-Ausscheidung von 9,409 in 9 Tagen, also 0,944 g pro Tag. Demgegenüber bedeutet die N-Ausscheidung von 0,816 an den Chitose Tagen eine geringe, aber unzweifelhafte Ersparnis. Wenn also, was nicht unmöglich ist, im Organismus aus dem etwa abgespaltenen Chitosamin Chitose entsteht, so würde diese beschränkend auf den Eiweißzerfall einwirken können. Zur Sicherung des Resultates wäre natürlich eine Wiederholung des Versuches, womöglich mehrfach, mit größeren Quantitäten Chitose sehr wünschenswert gewesen: leider war es mir unmöglich, weitere Versuche anzustellen, da ich in meine Heimat zurückkehren mußte.

Bezüglich des Einflusses des Glukosamins auf die Glykogenbildung hat sich also ergeben, daß in Übereinstimmung mit den bisherigen Angaben salzsaures Glukosamin ganz ohne Einfluß ist, Chitose selbst dagegen eine geringe Glykogenbildung zur Folge hat, wobei die Art des Zustandekommens der Glykogenbildung ganz dahingestellt bleiben muß.

Literaturverzeichnis.

- 1) Salkowski, Diese Zeitschr., Bd. XXXII, S. 393.
- 2) Neuberg u. Wohlgemuth, Diese Zeitschr., Bd. XXXV, S. 54.
- 3) Wohlgemuth, Diese Zeitschr., Bd. XXXV, S. 568.
- 4) Cremer, Zeitschr. f. Biologie, Bd. 29.
- 5) Offer u. Fränkel, Zentralbl. f. Physiologie, Bd. 13.
- 6) Fabian, Diese Zeitschr., Bd. XXVII, S. 167.
- 7) Lobry de Bruyn u. Ekenstein, Malys Jahresber. Refer., Bd. 27, S. 70.
- 8) Salkowski, Diese Zeitschr., Bd. XXXVI, S. 257.