

Der Abbau des Leucins und des Leucyl-leucins im Organismus des Hundes.

Von

Emil Abderhalden und Franz Samuely.

(Aus dem I. Chemischen Institut der Universität Berlin und der Medizinischen Klinik in Göttingen.)

(Der Redaktion zugegangen am 1. März 1906.)

Der eine von uns hat kürzlich in Gemeinschaft mit Dr. Y. Teruuchi über das Verhalten einiger Aminosäuren und Peptide sowie deren Anhydride im Organismus des Hundes berichtet.¹⁾ Es zeigte sich, daß der Stickstoff von Glykokoll, Alanin, Glycylglycin, Diglycylglycin, Glycinanhydrid und Alaninanhydrid bei deren Einführung in den Organismus des Hundes, sei es per os, sei es subkutan im wesentlichen in Form von Harnstoff ausgeschieden wird. Es schien uns wünschenswert, diese Untersuchungen auch auf andere Aminosäuren und Polypeptide auszudehnen. Wir verwendeten zu unseren Versuchen racemisches Leucin und racemisches Leucyl-leucin. Es interessierten uns zwei Fragen. Einmal suchten wir festzustellen, in welcher Form der in den genannten Verbindungen einem Hunde zugeführte Stickstoff zur Ausscheidung gelangt. Andererseits war die Möglichkeit vorhanden, daß von den angewandten racemischen Verbindungen nur die eine Hälfte verbrannt wird. Durch eigene Versuche konnten wir in Übereinstimmung mit J. Wohlgemuth²⁾ nachweisen, daß racemisches Leucin vom Kaninchenorganismus nur teilweise abgebaut wird. Bei dessen Einführung per os — das eine Mal verwandten wir 10, das andere Mal 15 g — ließen sich aus dem innerhalb der nächsten 48 Stunden gelassenen Urin reichliche Mengen von d-Leucin isolieren. Seine Menge betrug 50—60% der berechneten. In 20%iger Salzsäure gelöst, zeigte es eine spezifische Drehung von $-15,3^{\circ}$ und $15,1^{\circ}$. Wir müssen es dahingestellt sein lassen, ob das erhaltene Präparat, dessen Analysenzahlen genau mit denen des Leucins übereinstimmten, rein war oder aber,

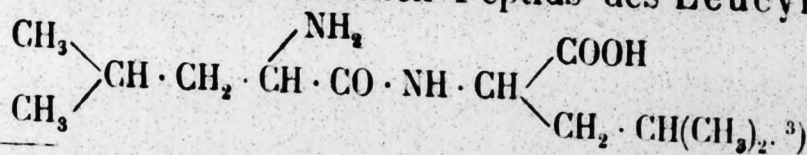
¹⁾ Emil Abderhalden und Yutaka Teruuchi, Über den Abbau einiger Aminosäuren und Peptide im Organismus des Hundes. Diese Zeitschrift, Bd. XLVII, S. 159, 1906.

²⁾ J. Wohlgemuth, Über das Verhalten stereoisomerer Substanzen im tierischen Organismus, II. Die inaktiven Monoaminosäuren, Berichte d. Deutsch. chem. Gesellsch., Jg. XXXVIII, S. 2064, 1905.

ob dem etwas zu niedrigen Drehungswerte eine Beimengung von etwas l-Leucin entspricht. Schulze gibt für das Leucin die spezifische Drehung $16,9^{\circ}$ an.¹⁾

Unser Versuchstier, ein Hund von $16\frac{1}{2}$ kg, erhielt per os 10 g racemisches Leucin. Im Harn ließ sich weder direkt, durch dessen Einengen nach vorheriger Fällung der verdünnten Lösung mit Bleiacetat, noch durch Schütteln des Urins mit β -Naphthalinsulfochlorid und Alkali Leucin in erheblicher Menge nachweisen. Zu demselben Resultat führte ein zweiter Versuch an einem $21\frac{1}{2}$ kg schweren Hunde. Schließlich erhielt ein drittes Versuchstier zweimal 10 g racemisches Leucin subkutan. Auch hier ließen sich nur geringe Mengen einer β -Naphthalinsulfoverbindung gewinnen, deren Schmelzpunkt auf die Anwesenheit eines Leucinderivates hinwies. Wir bemerken noch ausdrücklich, daß die Ausbeuten an diesem Produkte sich ziemlich gleich blieben, auch wenn nach dem Vorschlage von Embden und Reese²⁾ der Harn mit einem starken Überschuß von Alkali geschüttelt wurde. Jedenfalls geht aus diesen Versuchen hervor, daß der Organismus des Hundes sich gegenüber den racemischen Aminosäuren anders verhält als der des Kaninchens. Es gilt dies wenigstens in quantitativer Hinsicht. Daß jedoch offenbar individuelle oder doch von dem momentanen Ernährungszustand abhängige Schwankungen vorhanden sind, beweist der Umstand, daß ein sehr fettleibiger, $4\frac{1}{2}$ kg schwerer Hund nach der Einfuhr von 10 g racemischem Leucin im Urin 1,2 g d-Leucin ausschied.

Von besonderem Interesse war vor allem die Prüfung des Verhaltens des racemischen Peptids des Leucyl-leucins:



¹⁾ Vergl. Emil Fischer und Otto Warburg, Spaltung des Leucins in die optisch aktiven Komponenten mittels der Formylverbindung, Berichte d. Deutsch. chem. Gesellsch., Jg. XXXVIII, S. 3997, 1905.

²⁾ Gustav Embden und Heinrich Reese, Über die Gewinnung von Aminosäuren aus normalem Harn, Hofmeister's Beiträge, Bd. VII, S. 411, 1905.

³⁾ Emil Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch., Jg. XXXVII, S. 2491, 1904.

Dieses wird, wie Emil Fischer und Emil Abderhalden¹⁾ nachgewiesen haben, in der vorliegenden Form von aktiviertem Pankreassaft nicht gespalten. Wie unsere Versuche zeigen, wird dieses Peptid bei seiner Einführung per os sicher gespalten und zum größten Teil völlig verbrannt. Es muß einstweilen unentschieden bleiben, ob bereits im Darm eine Zerlegung des Leucyl-leucins in seine Komponenten stattfindet, oder ob diese erst jenseits des Darms in den Geweben erfolgt. Auch der Umstand, daß der Pankreassaft selbst anscheinend keinen Einfluß auf die verwandte Form des Peptids ausübt, schließt nicht aus, daß eine kombinierte Wirkung von Pepsin-salzsäure, Darmsaft und Pankreassaft die Bindung zwischen den Leucinmolekülen doch sprengt. Über die Konfiguration des angewandten Dipeptids wissen wir vorläufig noch nichts. Es spricht vieles dafür, daß d-Leucyl-d-leucin vorliegt, denn nach Analogie mit anderen racemischen Peptiden wäre zu erwarten gewesen, daß die Anwesenheit von l-Leucin eine asymmetrische Spaltung des Dipeptids Leucyl-leucin durch Pankreassaft bewirkt hätte. Wir haben im vorliegenden Versuche den Urin stets sorgfältig auf Leucin und Dipeptid untersucht und vor allem ständig sein optisches Verhalten untersucht. Der Urin zeigte stets eine geringe Drehung nach rechts. Es ließ sich weder direkt noch mit β -Naphthalinsulfochlorid und Alkali unverändertes Dipeptid nachweisen, ebensowenig gelang es uns, Leucin in zur Analyse hinreichender Menge zu gewinnen. Geringe Mengen waren stets vorhanden. Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß das zugeführte Leucyl-leucin zum weitaus größten Teil abgebaut worden ist.

Auf den nachfolgenden Tabellen finden sich die Ergebnisse der Verfolgung des Stickstoffstoffwechsels mit und ohne Zugabe von Leucin resp. Leucyl-leucin zu einer bestimmten Nahrung. Die Versuche sind nach zwei Richtungen ausgeführt worden. Einmal wurde bei gleichbleibender Nahrungsmenge 1 g Stickstoff in Form von Leucin resp. Leucyl-leucin zugesetzt

¹⁾ Emil Fischer und Emil Abderhalden, Über das Verhalten verschiedener Polypeptide gegen Pankreassaft und Magensaft. Diese Zeitschrift, Bd. XLVI, S. 77, 1905.

und andererseits wurde vom gesamten Nahrungsstickstoff 1 g durch Leucinstickstoff ersetzt. Schließlich führten wir in einem Falle auch Leucin subcutan ein. In diesem Falle wurde das sehr schwer lösliche Leucin in $\frac{1}{10}$ n-NaOH aufgelöst und in Dosen von je 10 ccm stündlich eingespritzt. Bei den Fütterungsversuchen wurden die Präparate innig mit der Nahrung vermischt, und diese stets zu denselben Zeiten in zwei Portionen verabreicht. Der Urin wurde morgens mit Hilfe eines Katheters entleert. Er reagierte mit Ausnahme der Periode, in der Leucin subkutan zugeführt wurde, stets sauer. Der gesamte Stickstoff wurde nach Kjeldahl, der Harnstoffstickstoff nach Mörner-Sjöqvist bestimmt.

Die erhaltenen Resultate sind nicht einheitlich. Leucyl-leucin bedingte eine Vermehrung der Harnstoffausscheidung und zwar, wie die Tabelle I zeigt, eine recht erhebliche. Eigentümlicherweise hatte Leucin selbst fast gar keinen Einfluß weder auf die gesamte Stickstoffausscheidung noch auf die des Harnstoffs. Wir halten diesen Versuch nicht für beweisend, weil der Kot stets beträchtliche Stickstoffmengen enthielt. Sie nahmen allerdings während der Fütterungstage nicht zu.

In einem zweiten Versuch (Tabelle II) ersetzten wir 1 g des Nahrungsstickstoffes durch Stickstoff in Form von Leucin. Das Versuchstier blieb nicht nur im Stickstoffgleichgewicht, sondern setzte in dem einen Falle noch etwas Stickstoff an. Wir haben den ersten Versuch mit Zulage von 10 g Leucin zu einer bestimmten Nahrung wiederholt und wiederum stiegen weder die Gesamtstickstoffmengen noch die des Harnstoffs an. Es wurde im Gegenteil der gesamte in Form von Leucin zugeführte Stickstoff retiniert. Es muß vorläufig noch unentschieden bleiben, auf welche Ursache dieses Verhalten des Leucins zurückzuführen ist. Es ist möglich, daß seine Schwerlöslichkeit die Schuld trägt. Jedenfalls erscheint bei subkutaner Einführung wenigstens ein Teil des Leucinstickstoffs im Harn wieder. Auch die Harnstoffzahlen stiegen an.

Diese Versuche werden unter anderen Bedingungen fortgesetzt. Wir warten deren Resultate ab und vermeiden vorläufig alle weiteren Schlußfolgerungen.

Tabelle I.

Datum	Harn- menge ccm	Ges.-N im Harn g	Ur-N ⁺ im Harn g	Differenz g	Feuchte Faeces g	N der trockenen Faeces g	Gesamt-N ausge- schieden g	N der Nahrung g	N-Bilanz g	Körper- gewicht # g	Bemerkungen Nahrung	
17. XI.	250	4,0241	3,2901	0,7340	—	—	4,2647	4,21	—	16	562	130 g Schabefleisch 45 , Fett 15 , Rohrzucker
18.	250	4,1822	3,1841	0,9981	—	—	4,4222	4,40	-0,0222	16	650	
19.	250	4,2018	3,2525	0,9493	—	—	4,4418	4,40	-0,0418	16	670	
20.	250	4,1792	3,1930	0,9762	112	0,72	4,4192	4,21	-0,0092	16	560	
21.	250	4,9998	3,9681	1,0317	—	—	5,2398	5,22	-0,0998	16	623	Nahrung wie bisher = 4,21 g Eiweiß-N + 10 g Leucyl-leucin = 1,01 g N
22.	250	4,9689	3,8995	1,0694	—	—	5,2089	5,22	-0,0889	16	650	
23.	250	4,9991	3,9291	0,9700	95	0,72	5,3391	5,22	-0,1191	16	568	
24.	250	4,0183	3,1240	0,8943	—	—	4,3583	4,20	-0,1583	16	655	4,21 g Eiweiß-N + 10 g Leucin = 1,01 g N
25.	250	4,0971	3,1167	0,9804	90	0,69	4,2371	4,20	-0,371	16	562	
26.	250	4,0792	3,1350	0,9442	—	—	4,3192	4,20	-0,1192	16	590	
27.	250	4,2901	3,3102	0,9799	—	—	4,5301	5,21	+0,6799	16	630	
28.	250	4,1082	3,1631	0,9451	90	0,71	4,1082	4,22	-0,1118	16	565	
29.	250	4,0375	3,0909	0,9366	—	—	—	4,22	—	—	—	

Tabelle II.

Datum	Harn- menge ccm	Ges.-N im Harn g	+ Ur-N im Harn g	N- Differenz g	Faeces feucht g	N in Faeces g	Ges.-N ausge- schieden g	Nah- rungs- N g	N-Bilanz g	BaSO ₄ in 250 ccm Harn g	Körper- gewicht g		Bemerkungen Nahrung
											g	g	
17. XII.	250	5,17	4,0423	1,0277	—	—	—	—	—	—	21	430	
18. XII.	250	4,6613	3,6192	1,0421	—	—	—	—	—	—	21	374	130 g Schabefleisch
19. XII.	250	4,6192	3,8001	0,8191	57,0	0,61	5,2292	5,04	—	2,943	21	432	15 » Rohrzucker
20. XII.	250	4,6401	3,7223	0,9178	81,0	0,67	5,3001	5,04	-0,2601	2,928	21	410	75 » Fett
21. XII.	250	4,6289	3,7187	0,9102	80,0	0,51	5,1389	5,19	+0,0511	2,716	21	427	90 » Stärke
22. XII.	250	4,6604	3,7600	0,9004	92,0	0,61	5,2704	5,10	-0,1704	2,959	21	422	
23. XII.	250	4,0181	3,5201	0,4980	89,0	0,92	4,9381	5,10	+0,1719	2,612	21	409	1/5 des Nahrungs-N
24. XII.	250	4,2904	3,5910	0,6994	56,0	0,57	4,8604	5,10	+0,2396	2,732	21	415	durch Leucin-N
25. XII.	250	4,1433	3,5221	0,6112	74,0	0,85	4,9933	5,10	+0,1067	2,994	21	431	ersetzt = 10,0 g Leucin.
26. XII.	250	4,6491	3,7453	0,8538	64,0	0,52	5,1391	5,10	-0,0791	2,918	21	436	
27. XII.	250	4,6325	3,6900	0,9420	61,0	0,43	5,0625	5,10	+0,0375	2,726	21	402	
28. XII.	250	3,5120	2,5891	0,9229	93,0	0,61	4,1220	4,10	-0,022	—	21	411	1/5 des Nahrungs-N entzogen.
29. XII.	250	3,5413	2,6001	0,9412	—	—	—	5,10	—	—	21	415	

Tabelle III.

Datum	Harn- menge ccm	Ges.-N im Harn g	Ur-N ⁺ im Harn g	N-Diffe- renz g	Faeces trocken g	N in Faeces g	Gesamt-N ausge- schieden g	Nahrungs- N g	N-Bilanz g	BaSO ₄ im Tages- harn g	Körper- gewicht g	Bemerkungen Nahrung	
30. XII.	250	4,3685	3,8964	0,3741	—	—	4,3905	5,02	+ 0,6295	—	22	50	130 g Fleisch
31.	250	5,2923	4,5821	0,7102	—	—	5,3143	5,02	— 0,2943	—	22	50	75, Fett
1. I.	264	5,0690	4,6702	0,3988	—	0,11	5,0910	5,02	— 0,0710	—	22	40	30, Stärke
2.	250	5,1682	4,4304	0,7378	—	—	5,1902	5,02	— 0,1702	3,044	22	32	15, Rohrzucker
3.	250	5,9801	4,2800	1,7001	30,0	—	5,0021	5,02	— 0,9821	3,0421	22	50	
4.	275	5,5523	4,4199	1,0324	—	—	5,5793	6,02	+ 0,4507	2,954	22	56	
5.	275	5,0094	4,3712	0,6382	—	—	5,0364	6,02	+ 0,9836	2,956	22	40	Zulage von 10 g Leucin = 1,0 g N
6.	275	5,0029	4,1715	0,8314	—	0,11	5,0299	6,02	+ 0,9901	3,023	22	65	
7.	275	5,0081	4,2801	0,7280	26,0	—	5,0351	5,02	— 0,0151	3,014	22	50	
8.	275	4,9899	4,1311	0,8588	—	—	4,9899	5,02	+ 0,0301	—	22	42	

Tabelle IV.

Datum	Harn- menge ccm	Ges.-N des Harnes g	+ Ur-N des Harnes g	Diffe- renz g	Kot feucht g	N in Faeces g	Gesamt-N ausge- schie- den g	N-Bilanz g	N der Nah- rung g	Körper- gewicht		Bemerkungen Nahrung
										g	%	
22. I.	250	4,5203	3,5972	0,9231	—	} 0,21	4,5703	— 0,0703	4,50	16	372	140 g Fleisch 40 „ Fett 15 „ Rohrzucker
23.	250	4,5091	3,5389	0,9602	—		4,5591	— 0,0591	4,50	16	375	
24.	250	4,5086	3,5685	0,9401	—		4,5586	— 0,0586	4,50	16	380	
25.	250	4,5121	3,6021	0,9100	—		4,5621	— 0,0421	4,52	16	400	
26.	250	4,5201	3,5900	0,9301	85		4,5701	— 0,0501	4,52	16	385	
27.	350	4,9194	3,9582	0,9512	—		} 0,35	4,9894	+ 0,4694	5,52	16	
28.	380	5,0210	4,0086	0,9125	—	5,0910		+ 0,5710	5,52	16	400	
29.	300	4,7321	3,7601	0,9720	—	4,8021		— 0,3821	4,52	16	410	
30.	250	4,5023	3,5472	0,9551	—	} 0,0708	4,5708	— 0,0508	4,52	16	405	Gutes Befinden, an zwei Stellen Abszesse
31.	250	4,5108	3,5622	0,9486	—		4,5808	0,0708	4,51	16	420	
1. II.	250	6,2120	5,4313	0,7807	72	—	—	—	4,51	16	376	Haut u. Subkutanekrose an beiden Kubitaldrüsen, kein erhebl. Ödem
2.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Wohlbefinden, kein Fieber.