

Weiterer Beitrag zur Frage nach der Verwertung von tief abgebautem Eiweiß im Organismus des Hundes.¹⁾

Von

Emil Abderhalden und Berthold Oppler.

(Aus dem I. Chemischen Institut der Universität Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 2. März 1907.)

Im Jahre 1902 hat Otto Loewi²⁾ Versuche über den Wert der biuretfreien Spaltprodukte der Pankreasselbstverdauung für den Haushalt des Hundes veröffentlicht. Er hat mit dieser Untersuchung das Problem der Eiweißsynthese im tierischen Organismus von ganz neuen Gesichtspunkten aus aufgerollt. Es gelang Otto Loewi, nachzuweisen, daß der gesamte Bedarf an Stickstoff während mehrerer Tage durch biuretfreie Abbauprodukte, die bei der Pankreasselbstverdauung entstanden waren, nicht nur gedeckt werden kann, sondern daß es sogar gelingt, Stickstoff zum Ansatz zu bringen. Loewi hat seine Versuche sehr sorgfältig durchgeführt und seine Schlüsse dem Stand der damaligen Kenntnis des Eiweißabbaus durch Trypsin resp. autolytische Fermente genau angepaßt. Loewi hat das verfütterte Produkt nicht genau analysiert. Er weiß nur, daß eiweißartige Verbindungen nicht mehr vorhanden waren, und auch peptonartige Komplexe nur in geringer Menge. Wie weit jedoch die Eiweißkörper des Pankreasgewebes abgebaut waren, d. h. ob im Vergleich zum Ausgangsmaterial schon erhebliche Mengen einfachster Spaltprodukte entstanden waren, konnte Loewi nach dem Stand der damaligen Untersuchungsmethoden nicht nachweisen. Seine Versuche beweisen unbedingt, daß biuretfreie Eiweißabbauprodukte in gewissem Sinne für Eiweiß eintreten können, sie sagen jedoch nichts darüber aus, wie weit Eiweiß

¹⁾ Emil Abderhalden und Peter Rona, Fütterungsversuche mit durch Pankreatin, durch Pepsinsalzsäure plus Pankreatin und durch Säure hydrolysiertem Casein. Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 528, 1904. — Ferner: Über die Verwertung der Abbauprodukte des Caseins im tierischen Organismus. Ebenda, Bd. XLIV, S. 198, 1905 und Weitere Beiträge zur Kenntnis der Eiweißassimilation im tierischen Organismus. Ebenda, Bd. XLVII, S. 397, 1906.

²⁾ Otto Loewi, Über Eiweißsynthese im Tierkörper. Archiv für experim. Path. u. Pharmak., Bd. XLVIII, S. 303, 1902.

abgebaut sein darf, um noch im tierischen Organismus Verwendung zu finden. Für uns war gerade die Feststellung dieses Punktes von der allergrößten Wichtigkeit und zwar von zwei Gesichtspunkten aus.

Aus den zahlreichen vergleichenden Hydrolysen der verschiedenartigsten Eiweißkörper ergab sich der zwingende Schluß, daß das Nahrungseiweiß, damit es zum Aufbau der Körper-eiweißstoffe Verwendung finden kann, im Darmkanal mehr oder weniger weit abgebaut werden muß.¹⁾ Dieser Schluß würde nur dann eine Einschränkung erfahren, wenn der Nachweis gelänge, daß die Proteine in keiner Weise einheitliche Verbindungen, sondern Gemische der verschiedenartigsten Kombinationen von Aminosäuren darstellen. In diesem Falle würde die Umwandlung des einen Proteins in ein anderes ein entsprechend einfacherer Vorgang sein. Jedoch würde auch in diesem Fall ohne Zweifel ein Abbau dem Aufbau vorangehen müssen, wenn vielleicht auch in beschränkterem Maße. Daß in der Tat im Magendarmkanal das Nahrungseiweiß weit abgebaut wird, darf jetzt als bewiesen angesehen werden. Eine unge löste Frage ist nur noch die, wie weit in jedem Einzelfalle der Abbau geht, d. h. ob, was kaum wahrscheinlich ist, eine totale Aufspaltung stattfindet und als letzte Abbauprodukte ausschließlich Aminosäuren auftreten. In gewissem Sinne ließ sich diese Fragestellung dadurch in Angriff nehmen, daß man versuchte, ein Tier mit weit abgebautem Eiweiß im Stickstoffgleichgewicht zu halten. Hier setzten die Versuche des einen von uns mit Peter Rona ein. Wir gingen von einem abgebauten Eiweißpräparat aus, dessen Zusammensetzung wir genau kannten. Wir wußten, wieviel vom gesamten Eiweiß bis zu den einfachsten Spaltprodukten abgebaut war und wieviel abiurete, jedoch komplizierter gebaute Komplexe noch vorhanden waren. Wir mußten dies feststellen, damit wir ausschließen konnten, daß das Versuchstier seinen Eiweißbedarf auf Kosten der letzteren Produkte

¹⁾ Vergl. Emil Abderhalden. Abbau und Aufbau der Eiweißkörper im tierischen Organismus. Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 17, 1905 und Die Bedeutung der Verdauung der Eiweißkörper für deren Assimilation. Zentralbl. für Stoffwechsel- und Verdauungskrankheiten. Jg. V, S. 647, 1904.

deckte. Unser Bestreben ging denn auch dahin, unser Versuchstier — einen Hund — mit so geringer Stickstoffmenge zu ernähren, daß ganz unmöglich an eine ausschließliche Verwendung der komplizierteren Produkte gedacht werden konnte. Unser Versuch hat denn auch klar bewiesen, daß es gelingt, einen Hund während längerer Zeit mit einem Gemisch von Eiweißabbauprodukten im Stickstoffgleichgewicht zu halten, das zum überwiegend größten Teile aus Aminosäuren, zum kleinsten Teile aus komplizierteren Produkten besteht.

Unsere Versuche entsprangen noch einem anderen Probleme. Es war a priori nicht undenkbar, daß die Eiweißabbauprodukte nur dann Verwendung im tierischen Organismus finden können, wenn bestimmte komplizierter gebaute Komplexe in mehr oder weniger großer Menge vorhanden sind. In diesem Falle wäre es von höchstem Interesse gewesen, festzustellen, wie weit diese Komplexe abgebaut sein dürfen, und in welcher Menge sie vorhanden sein müssen. Auch ihre Natur aufzuklären, wäre sehr reizvoll gewesen. Zugleich hätten wir einen wichtigen Versuch an der Hand gehabt, die physiologische Dignität der komplizierteren Polypeptide Emil Fischers festzustellen. Nachdem nun durch den unten beschriebenen Versuch nachgewiesen ist, daß der tierische Organismus offenbar auf die komplizierten Abbauprodukte nicht angewiesen ist, sondern vielmehr imstande ist, seinen Eiweißbedarf auch mit vollständig abgebautem Eiweiß zu decken, hat es wenig Aussicht, zu versuchen, Tiere, z. B. Ratten oder Mäuse, mit Polypeptiden zu ernähren, denn diese würden voraussichtlich im Magendarmkanal in ihre Komponenten zerlegt und erst die Spaltprodukte verwertet werden, wenigstens würde man stets den Einwand machen können, daß der Aufbau der Polypeptide für deren Assimilation nicht im Sinne einer direkten Verwertung ausschlaggebend gewesen sei, sondern indirekt durch den Umstand, daß das verfütterte Produkt den Fermenten des Magendarmkanals zugänglich war. Man wird die Beziehungen zwischen den Polypeptiden und den höheren Eiweißabbauprodukten und dem Eiweiß selbst voraussichtlich, abgesehen von dem Verhalten gegen die proteolytischen Fermente, speziell des Magens, am ehesten mit Hilfe der biologischen Reaktion verfolgen können.

Zugleich wird es möglich sein, von den nach ihrem Aufbau genau bekannten Polypeptiden aus das Wesen der biologischen Reaktion und die Bedingungen ihres Zustandekommens aufzuklären.

Ist es fast aussichtslos, durch Stoffwechselversuche an höher organisierten Tiere einen Einblick in die physiologische Bedeutung der Art des Aufbaus der synthetischen Polypeptide zu erhalten und etwa den Einfluß der Anordnung der Aminosäuren und die Länge der Ketten zu studieren, so ist es nicht ausgeschlossen, an einfacheren Organismen derartige Studien mit Erfolg auszuführen. Es ist wohl denkbar, daß die niederen Organismen die ihnen gebotene Eiweißnahrung nicht unter allen Umständen vollständig abbauen, sondern dann, wenn größere, ihnen in ihrem Aufbau zusagende Komplexe dargeboten werden, diese direkt assimilieren, ebenso wie es wohl denkbar ist, daß auch bei den höher organisierten Wesen der Eiweißabbau im Magendarmkanal sehr von der Art des Aufbaus und der Zusammensetzung des einzelnen Proteins abhängig ist. Je mehr das Nahrungseiweiß vom Körpereweiß abweichen wird, um so mehr wird es umgebaut werden müssen, um Verwendung finden zu können.

Sollte es gelingen, ein bestimmtes Protein eines niederen Lebewesens, z. B. der Hefe, in seinem Aufbau aufzuklären oder doch bestimmte, größere Spaltstücke zu fassen, dann wäre es wohl denkbar, durch Verfütterung des entsprechenden synthetischen Produktes eine direkte Assimilation ohne vorherigen Abbau zu bewirken. Einstweilen müssen wir den umgekehrten Weg einschlagen und rein empirisch feststellen, wie ein einfacher Organismus sich zu den verschiedenartigen synthetischen Polypeptiden verhält, wie er sie abbaut und wie er sie verwendet.¹⁾

Kurz nach dem Erscheinen unserer ersten Versuche über die Verwertung von weit abgebautem Eiweiß im tierischen Organismus haben auch V. Henriques und C. Hansen²⁾ ähnliche Versuche veröffentlicht. Sie wählten als Versuchstiere Ratten. Als Eiweißersatz diente zunächst mit Säure hydroly-

¹⁾ Versuche nach dieser Richtung speziell mit Hefe sind im Gange. Sie sind aber mühsam und kostspielig, weil nur optisch aktive Peptide für diese Untersuchungen geeignet sind. Emil Abderhalden.

²⁾ V. Henriques und C. Hansen, Über Eiweißsynthese im Tierkörper. Diese Zeitschrift, Bd. XLIII, S. 417. 1905.

siertes Eiweiß. Es gelang nicht, mit diesem Produkte die Versuchstiere vor Stickstoffverlust zu schützen. In völliger Übereinstimmung mit diesem Resultate steht der Versuch des einen von uns mit Peter Rona am Hunde. Zu weiteren Versuchen verwendeten Henriques und Hansen ein Verdauungsprodukt, das durch zwei Monate langes Stehenlassen von Pankreas vom Ochsen mit Darmschleimhaut des Hundes im Thermostaten gewonnen worden war. Dieses Produkt gab keine Biuretreaktion. Die genannten Autoren haben nicht festgestellt, wie weit das verwendete Verdauungsgemisch abgebaut war. Mit diesem Gemisch gelang es den genannten Forschern, Stickstoffansatz zu bewirken. Auffallenderweise fand auch Stickstoffretention bei Verfütterung eines Produktes statt, das nur Monoaminosäuren einschließen sollte. Es war aus dem Filtrat der Phosphorwolframsäurefällung des oben genannten Verdauungsproduktes gewonnen worden. Unzweifelhaft waren neben den Monoaminosäuren auch noch Polypeptide vorhanden, denn die einfacheren, wie z. B. viele Dipeptide, fallen zum Teil überhaupt nicht mit Phosphorwolframsäure und viele sind im Überschuß des Fällungsmittels löslich. Jedenfalls nehmen die genannten Autoren an, daß das verfütterte Produkt keine Diaminosäuren enthielt. Noch viel merkwürdiger ist die Angabe, daß es gelingt, Ratten vor Verlust an Stickstoff durch Verfütterung derjenigen Produkte zu schützen, die mit 96%igem Alkohol bei 50° sich aus dem eingedampften, oben angeführten Verdauungsprodukte herauslösen lassen. Der in Alkohol unlösliche Teil genügte nicht, den Stickstoffverlust hintanzuhalten. Leider fehlen auch hier exakte Angaben über die Zusammensetzung des verfütterten Produktes. Wir möchten natürlich gerne wissen, ob im alkoholischen Auszug und im Rückstand dieselben Aminosäuren vorhanden waren, oder ob welche fehlten usw. Die Angabe, daß das Verdauungsprodukt mit 96%igem Alkohol ausgezogen wurde, besagt wenig. Wir wissen aus mannigfachen Erfahrungen, daß ein scheinbar trockenes Abbauprodukt aus Eiweiß fast ganz in absolutem Alkohol löslich ist und fast vollständig unlöslich wird, wenn ihm jede Spur von Wasser entzogen wird.

Wir sind deshalb auf diese Versuche von Henriques und

Hansen eingegangen, weil, falls ihre Angaben durch exaktere Versuche sich bestätigen sollten, sich die ganze, auch von uns bearbeitete Fragestellung verschieben würde. Wenn es gelingen würde, höher organisierte Tiere mit nur einem Teil der Eiweißspaltprodukte längere Zeit im Stickstoffgleichgewicht zu halten, dann müßte man zu der an und für sich unwahrscheinlichen Annahme greifen, daß der tierische Organismus imstande ist, die einzelnen Aminosäuren in einander überzuführen. Ist eine solche Umwandlung für einander nahestehende Aminosäuren nicht unmöglich, so haben wir doch keinen Grund für die Annahme, daß z. B. aus Aminosäuren der aliphatischen Reihe solche der aromatischen entstehen, und ebenso fehlen uns alle experimentellen Grundlagen für die Vorstellung, daß Diaminosäuren aus Monoaminosäuren im tierischen Organismus hervorgehen können. Da Henriques und Hansen ausdrücklich von Eiweißsynthesen im tierischen Organismus sprechen, müssen sie doch derartige Umwandlungen als möglich betrachten, denn sie teilen, wie oben schon angeführt wurde, mit, daß es gelingt, mit Monoaminosäuren allein Stickstoffansatz zu bewirken. Würden diese Versuche sich bestätigen, dann wäre man gezwungen, die Rolle der Nahrungseiweißstoffe im tierischen Organismus in völlig anderem Sinne aufzufassen, als man es bis jetzt getan hat. Einstweilen liegt auf Grund der Untersuchungen von Henriques und Hansen keine Veranlassung zu einer eingehenden Diskussion dieser Frage vor, weil, wie eben betont wurde, die genannten Autoren es unterlassen haben, das verfütterte Material genau zu analysieren. Eine exakte Kenntnis des verwendeten Produktes ist in so schwierigen Fragen natürlich die erste Bedingung. Es erscheint uns auch fraglich, ob so kleine Tiere, wie Ratten, völlig einwandfreie Versuchstiere für Fragen des Stickstoffstoffwechsels sind. Bei so geringen Stickstoffausscheidungen fallen Versuchsfehler und die Fehler der Methodik besonders schwer ins Gewicht, und vor allem darf nicht außer acht gelassen werden, daß bei dem geringen (in absolutem Sinne) Stickstoffbedürfnis dieser Tiere es schwer ist, den Einfluß kleiner, sonst kaum in Betracht kommender Beimengungen auszuschalten. So können bei dem Versuche, in dem angeblich nur Monoamino-

säuren verfüttert worden waren, sehr wohl geringe Mengen von Diaminosäuren vorhanden gewesen sein, die genügten, um mit den sicher vorhandenen Polypeptiden und Monoaminosäuren als Baumaterial zu dienen. Jedenfalls müßte bei so kleinen Versuchstieren eine ganz besondere Sorgfalt auf die Untersuchung des verfütterten Materials gelegt werden. Die Bemerkungen gelten zum Teil auch für die neuen Versuche¹⁾ der genannten Forscher, aus denen jedenfalls nicht hervorgeht, daß eine Eiweißsynthese aus dem verfütterten Materiale stattgefunden hat. Die genannten Untersuchungen sind korrekter als Beiträge zur Frage der stickstoffsparenden Eigenschaften bestimmter stickstoffhaltiger Produkte der Eiweißreihe zu bezeichnen. Der Titel: Untersuchungen über Eiweißsynthese im Tierkörper kann irreführen, jedenfalls greift er unseren jetzigen Kenntnissen vor.

In völlig einwandfreier Weise ließe sich das Problem der Eiweißsynthese im tierischen Organismus aus einfachen Bausteinen lösen, wenn es gelänge, ein wachsendes Tier mit tief abgebautem Eiweiß zur raschen Gewichtszunahme und damit zur Vermehrung seines Gewebsbestandes zu bringen. Einem solchen Versuche stehen mannigfache Hindernisse entgegen, und erst eine reiche Erfahrung wird es ermöglichen, auch diesen Beweis ganz einwandfrei zu erbringen. Den ersten Beitrag zu dieser Frage ergibt der folgende Versuch. Wir suchten einen jungen Hund, der einer rasch wachsenden Rasse angehörte, mit einem Verdauungsprodukt aus Casein zu ernähren, das fast ausschließlich aus einfachsten Bausteinen bestand. Wir waren uns wohl bewußt, daß es bei Verwendung eines reinen Eiweißkörpers, dem außerdem noch das Glykokoll und vielleicht noch andere wichtige Bausteine fehlten, kaum gelingen würde, das Versuchstier zum Wachstum zu bringen. Das Versuchstier nahm sogar bei Fleischkost unter sonst gleichen Bedingungen nicht zu, während seine Geschwister, die sich im Freien bewegten und eine abwechslungsreiche Kost erhielten, rasch ihr Körpergewicht vermehrten. Als ersten Versuch nach dieser Richtung hielten wir es für richtiger, von einem bestimmten, uns wohl bekannten

¹⁾ V. Henriques und C. Hansen. Weitere Untersuchungen über Eiweißsynthese im Tierkörper. Diese Zeitschrift. Bd. XLIX. S. 113. 1906.

Eiweiß auszugehen, weil wir jede Beimengung uns unbekannter Stoffe vermeiden wollten. Die nächsten Versuche nach dieser Richtung werden wir mit abgebautem Fleisch resp. mit abgebauter Trockenmilch ausführen, um günstigere Bedingungen zu erhalten.

Der unten mitgeteilte Versuch zeigte im Gegensatz zu den früher mitgeteilten Untersuchungen keinen glatten Verlauf. Es stellten sich gleich in den ersten Tagen Schwierigkeiten ein. Das Versuchstier nahm zwar das Futter meist ganz spontan ohne weitere Nötigung, es zeigte jedoch bei gleichbleibender Art des Futters bald die Neigung, die Nahrung zu verweigern. Zu einer künstlichen Ernährung wollten wir auf keinen Fall greifen, auch vermieden wir, bei der Darstellung des Futters Methoden anzuwenden, welche eine Zersetzung der Nahrungsbestandteile zur Folge haben konnten. So blieb uns nichts anderes übrig, als in der Zusammensetzung der einzelnen Bestandteile zu wechseln, um auf diese Weise etwas Abwechslung zu schaffen. Das verdaute Casein hatte eine zähe Beschaffenheit. Es war stark hygroskopisch und bildete mit der gequollenen Stärke und den übrigen Bestandteilen der Nahrung einen zähen Brei. Durch allerlei Kunstgriffe suchten wir aus der ganzen Masse Boli zu bilden, indem wir das Casein mit der gequollenen Stärke und dem geschmolzenen Fett einhüllten. Um dem Bedürfnis nach Salzen entgegenzukommen, gaben wir dem Versuchstier vom 17. XII. an 10 g eines Produktes, das wir durch Eindampfen von Molken erhalten hatten. Diese Menge enthielt 0,11 g Stickstoff. Schließlich gaben wir dem Tiere auch geglühte, zerstoßene Knochen und etwas Eisen. Es gelang uns, wie die unten stehende Tabelle zeigt, nicht, das Gewicht des Tieres zu vermehren, im Gegenteil, es sank beständig. Am 15. XII. hatte das Tier die Nahrung verweigert. Wir führten dies auf die weiche Beschaffenheit der Nahrung zurück und stellten nun festere Boli unter Benutzung nicht gequollener Stärke her. Das Futter wurde nun gerne genommen, jedoch beweist der reichliche Kot und sein hoher Stickstoffgehalt, daß offenbar die Resorption stark beeinträchtigt war. Am 23. XII. verweigerte das Versuchstier die Nahrung. Es litt an Diarrhöen. Ganz fest war der Stuhl nie gewesen, doch war bis zu diesem Tage

die Konsistenz eine solche, daß der Urin nie verunreinigt wurde und eine Trennung von Kot und Urin leicht durchzuführen war. Der Kot enthielt beim Beginne des Versuches stets Ascariden, später ließen sich keine mehr nachweisen.

Am 22. XII. trat die erste größere Störung in unserem Versuche auf, indem das Versuchstier die Nahrung zum Teil übrig ließ. Auch an den folgenden Tagen wurde nicht die ganze Tagesration gefressen. Wir ließen nun das Versuchstier am 25. und 26. XII. gänzlich hungern. Vom 27. XII. bis 3. I. gaben wir ihm die gewöhnliche Nahrung mit Ausschluß des verdauten Caseins. Die einzige Stickstoffquelle waren die Salze aus Molken. Wir führten dem Tiere mit diesen 0,11 g Stickstoff pro die zu. Am 4. I. gingen wir wieder zur früheren Nahrung über. Leider traten am 7. I. bereits wieder heftige Diarrhöen auf. Am 11. I. brachen wir den Versuch ab.

Das Versuchstier war während des ganzen 45 Tage dauernden Versuches beträchtlich abgemagert. Es machte jedoch durchaus nicht den Eindruck eines Tieres, das ausgehungert war. 38 Tage lang hatte es keinen anderen Stickstoff erhalten als in Form von tief abgebautem Eiweiß!

Das verwendete, tief abgebaute Eiweiß war auf folgende Weise gewonnen worden. 2,5 kg Casein wurden in 10 l 0,3%iger Salzsäure suspendiert, und das Gemisch mit 250 ccm Magensaft vom Hunde versetzt. Zur Verhinderung von Fäulnis setzten wir Toluol zu. Nachdem dieses Produkt 4 Wochen bei 37° aufbewahrt worden war, wurde es mit Natriumbicarbonat neutralisiert, und dann mit 100 ccm Pankreassaft vom Hunde versetzt. Drei Monate vor Beendigung der Verdauung setzten wir, obwohl die Biuretprobe negativ ausfiel, noch 50 ccm reinen Darmsaft vom Hunde zu. Die ganze Verdauung hatte vom 3. XI. 05 bis 23. X. 06 gedauert. Das Verdauungsgemisch wurde nun abgenutscht und der Rückstand nach erfolgtem Auswaschen mit 1 l Wasser aufbewahrt. Das Filtrat dampften wir bei 40° des Wasserbades und einem Druck von etwa 12 mm völlig zur Trockene ein. Einen aliquoten Teil des Gesamtfiltrates behielten wir zur Feststellung der Zusammensetzung des gesamten Verdauungsgemisches zurück. Die klare, gelbe Lösung gab keine Spur einer Biuretprobe. Mit Ammonsulfat ließ sich keine Fällung nachweisen.

Einen Teil der zurückgehaltenen Lösung verdünnten wir mit Wasser so stark, bis sie etwa der Trockensubstanz entsprechend 1^oig war. Nach Zusatz von soviel Schwefelsäure, daß die Gesamtlösung davon 5% enthielt, fällten wir solange mit einer 10%igen Lösung von Phosphorwolframsäure, als noch eine Fällung eintrat. Der Niederschlag wurde abgenutscht, mit 5%iger Schwefelsäure ausgewaschen und schließlich auf der hydraulischen Presse bei 300 Atmosphären Druck ausgepreßt. Der steinharte, leicht pulverisierbare Niederschlag wurde nun mit der an Gewicht zweifachen Menge Baryt zerrieben und nach Zusatz von Wasser 24 Stunden auf der Schüttelmaschine geschüttelt. Aus dem Filtrat vom phosphorwolframsauren Baryt entfernten wir den überschüssigen Baryt quantitativ mit Schwefelsäure. Das Filtrat von Baryumsulfat wurde bei 40° des Wasserbades und bei etwa 12 mm Druck völlig zur Trockene verdampft. Der verbleibende Rückstand entsprach 9,5% des angewandten Caseins.

Um zu erfahren, ob dieses Produkt neben den Diaminosäuren noch Verbindungen enthielt, welche Monoaminosäuren aufweisen, wurde es 6 Stunden mit der dreifachen Menge konzentrierter Salzsäure am Rückflußkühler gekocht. Die Lösung färbte sich violett. Sie wurde unter vermindertem Druck eingedampft und der Rückstand in der gewohnten Weise zweimal verestert. Die Ester setzten wir mit der berechneten Menge Natriumalkoholat in Freiheit. Es wurden bei der Destillation der Ester 3 Fraktionen gemacht. Die erste Fraktion bis 100° des Wasserbades und 12 mm Druck enthielt hauptsächlich Alkohol. Beim Eindampfen des gesamten Destillates unter Zufügung von wässriger Salzsäure hinterblieb ein Rückstand von 2 g. Er enthielt offenbar die salzsauren Monoaminosäuren. Die zweite Fraktion (100° des Wasserbades und 0,5 mm Druck) war so gering, daß eine Verarbeitung gar nicht in Frage kam. Die dritte Fraktion endlich (0,5 mm Druck, 100—200° des Ölbad) bestand aus 2 g Aminosäureester. Im ganzen dürfte die Menge der isolierten Monoaminosäuren höchstens 2% des angewandten Caseins betragen haben.

Wenn auch diese Bestimmung keine quantitative sein kann, so geht doch aus ihr unzweifelhaft hervor, daß das von

uns verwendete Verdauungsprodukt nur Spuren von komplizierteren aus Monoaminosäuren zusammengesetzten Verbindungen enthalten hatte. Man kann, ohne einen Fehler zu begehen, unser Verdauungsprodukt als sehr weit und vielleicht als total abgebautes bezeichnen. Über die Anwesenheit einfacherer, durch Phosphorwolframsäure nicht fällbarer Polypeptide sagt unsere Untersuchung nichts aus. Wir haben jedoch keinen Grund, anzunehmen, daß ihre Menge eine große war.

Wir lassen es dahingestellt, ob dieser tiefe Abbau der Kombination der Magensaft- und Pankreassaftverdauung zu verdanken ist, oder ob der zuletzt noch zugesetzte Darmsaft den Abbau vollendete. Jedenfalls wies das Verdauungsprodukt vor Zusatz des Darmsaftes eine noch viel bedeutendere Fällung mit Phosphorwolframsäure auf.¹⁾

Das verfütterte Produkt bestand aus dem sorgfältig vermischten, weiter oben erwähnten abfiltrierten Krystallbrei (Tyrosin und Leucin) plus dem völlig eingedampften Filtrat des Verdauungsgemisches. Es ließ sich keine Spur einer Fäulnis oder sonstigen Zersetzung nachweisen. Das getrocknete Produkt hielt sich ohne Zusatz irgend eines Antiseptikums sehr gut und zeigte keine Veränderung.

Die Tabelle auf Seite 237-238 gibt die erhaltenen Resultate wieder.

Als Ergänzung dieser Übersicht sei erwähnt, daß das Versuchstier nach Abbruch des Versuches sofort in Freiheit gesetzt und reichlich mit Fleisch ernährt wurde. Das Körpergewicht nahm allmählich zu. Es betrug am 11. I. 5270 g, am 13. I. 5850 g, am 14. I. 5790 g, am 16. I. 5885 g, am 18. I. 5950 g, am 21. I. 6370 g und am 30. I. 6720 g.

Wir hatten noch Gelegenheit, zwei seiner Geschwister zu wiegen, welche stets normale Nahrung erhalten hatten. Das eine Tier wog 10000 g und das andere 9080 g. Diese beiden Tiere waren ohne Zweifel von Geburt an kräftiger als unser Versuchstier, dessen ungeachtet bleibt die Tatsache bestehen, daß unser Versuchstier unter den gewählten Versuchsbedin-

¹⁾ Vgl. hierzu: Otto Cohnheim, Zur Spaltung des Nahrungseiwisses im Darm. Diese Zeitschrift, Bd. XLIX, S. 64, 1906.

Datum	Nahrungs- stick- stoff- gehalt	Urin		Kot		Ge- samt- N- Aus- fuhr	Stick- stoff- bilanz	Ge- wicht in g	Art der Nahrung	
		Menge	Stick- stoff- gehalt	Menge	Stick- stoff- gehalt					
27. XI.	2,21	—	—	—	0,23	—	—	6000		
28.	2,21	275	1,38	17,1	0,23	1,61	+ 0,60	6030	30 g Schabefleisch	
29.	2,21	300	1,48		0,23	1,71	+ 0,50	6090	50 » Stärke	
30.	2,21	300	1,30		0,09	1,39	+ 0,80	6115	20 » Traubenzucker	
1. XII.	2,21	285	1,53	13,0	0,09	1,62	+ 0,59	6108	25 » Fett.	
2.	2,21	400	1,74		0,09	1,83	+ 0,38	6050		
3.	2,21	360	1,67	19,0	0,50	2,17	+ 0,04	6050		
4.	1,67	470	1,60		0,10	1,70	— 0,03	6058	Statt Schabefleisch	
5.	1,67	475	1,90	5,0	0,10	2,00	— 0,33	6075	25 g verdautes	
6.	1,67	470	1,49		0,10	1,59	+ 0,08	6080	Casein	
7.	2,00	365	1,45		0,04	1,49	+ 0,51	6053	30,25 g Casein	
8.	2,00	365	1,80	34,0	0,04	1,84	+ 0,16	6010	30,25 » Casein	
9.	2,00	430	1,52		0,04	1,56	+ 0,44	5993	70 g Stärke	
10.	2,00	325	1,58		0,68	2,26	— 0,26	5980	30 » Traubenzucker 25 » Fett.	
11.	2,00	365	1,63	31,5	0,68	2,31	— 0,31	5985	Wie vorher + 10 g Stärke	
12.	2,67	655	1,99		0,68	2,67	0	6115	40 g Casein, sonst wie am 11. XII.	
13.	2,67		1,99		0,52	2,51	+ 0,16	5965	40 g Casein	
14.	2,67	330	—	78,5	0,52	—	—	5945	50 » Stärke	
15.	2,67	250	1,64		0,52	2,16	+ 0,15	5870	50 » Traubenzucker 35 » Fett	
16.	3,00	500	1,95		0,52	2,47	+ 0,53	5840	45 g Casein, 50 g Stärke sonst wie vorher	
17.	2,50	405	2,37		0,56	2,93	— 0,43	5805	37,5 g Casein	
18.	2,61	430	1,70	54,0	0,56	2,26	+ 0,35	5890	50 g Stärke	
19.	2,61	405	1,61		0,56	2,17	+ 0,44	5852	20 » Traubenzucker	
20.	2,61	390	1,85	10,5	0,37	2,22	+ 0,29	5720	25 » Fett + 10 g ein- gedampfte Molken	
21.	2,61	325	1,66	21,0	0,98	2,64	— 0,03	5945	37,5 g Casein	
22.								5790	20 g Stärke	
23.		Nahrung zum Theil ver- weigert, Diarrhöen.							5980	40 » Rohrzucker
24.								5870	20 » Traubenzucker	
25.								5830	25 » Fett + 10 g ein- gedampfte Molken u.	
26.		Keine Nahrung.							5620	0,05 g Eisencarbonat Knochenasche

Datum	Nahrungsstickstoffgehalt	Urin		Kot		Gesamt-N-Ausfuhr	Stickstoffbilanz	Gewicht in g	Art der Nahrung
		Menge	Stickstoffgehalt	Menge	Stickstoffgehalt				
27.	0.11	130	0.70		0.17	0.87	- 0.76	5555	
28.	0.11	175	0.75		0.17	0.92	- 0.81	5570	50 g Stärke
29.	0.11	210	0.65		0.17	0.82	- 0.71	5620	20 » Traubenzucker
30.	0.11	264	0.71	33.5	0.17	0.88	- 0.77	5570	25 » Fett
31.	0.11	150	0.61		0.17	0.78	- 0.67	5520	10 » Salze aus Molken
1. 1.	0.11	167	0.79		0.17	0.96	- 0.85	5530	0.01 g Eisencarbonat
2.	0.11	108	0.57		0.17	0.74	- 0.63	5475	Knochenasche
3.	0.11	200	0.45		0.17	0.62	- 0.51	5520	
4.	2.61	350	1.64	5.0	0.1	1.74	+ 0.87	5515	37.5 g verdaut Casein
5.	2.61	470	2.48		0.1	2.58	+ 0.03	5590	34.0 » Stärke
6.	2.61	380	1.67		0.1	1.77	+ 0.84	5620	20 g Traubenzucker
7.	2.61	—	—		—	—	—	5575	25 » Fett
8.	2.61	—	—	Diarrhöe	—	—	—	5560	10 g Salze aus Molken
9.	2.61	—	—		—	—	—	—	5390
10.	2.61	300	—		—	—	—	5400	Knochenasche

gungen in seiner Entwicklung weit hinter seinen Altersgenossen zurückgeblieben war. Wir wollen gleich hier anschließend erwähnen, daß wir versucht haben, die Frage zu entscheiden, ob die Ursache der genannten Erscheinung bedingt sei durch die Art der Nahrung und speziell durch das tief abgebaute Casein. Wir suchten deshalb *ceteris paribus* mit unverdaulichem Casein denselben Versuch durchzuführen. Es gelang uns jedoch bei zwei Hunden — der eine davon war unser Versuchstier — nicht, Stickstoffgleichgewicht zu erhalten. Es scheint, daß das käufliche Casein unter der Denaturierung so gelitten hat, daß es schwer angreifbar wird. Der Kot enthielt stets auffallend viel Stickstoff. Das Körpergewicht der Tiere sank bei diesen Versuchen beständig.

Es ist recht schwierig, den mitgeteilten Versuch richtig zu beurteilen. Jedenfalls ist es uns gelungen, das Versuchstier während längerer Zeit mit sehr weit abgebautem Casein im Stickstoffgleichgewicht zu halten. Sobald aus der Nahrung das verdaute Casein bei sonst gleich-

bleibender Mischung an stickstofffreien Nahrungsstoffen weglassen wurde, trat die negative Stickstoffbilanz deutlich zutage, um sofort wieder zu verschwinden, als das verdaute Casein wieder zugesetzt wurde.

Wir möchten unser Versuchsergebnis nur als eine weitere Etappe in der Frage nach der Eiweißsynthese im tierischen Organismus betrachten und mit bestimmten Schlüssen zuwarten, bis es uns gelingt, mit tief abgebautem Eiweiß reichliche Gewebsvermehrung nachzuweisen.

Nach dem heutigen Stande unserer Vorstellungen vom Eiweißab- und -aufbau im tierischen Organismus müssen wir allerdings schließen, daß das verdaute Casein die Stelle von Nahrungseiweiß völlig vertreten hat. Wir müssen auch den Schluß ziehen, daß das zugeführte Verdauungsprodukt aufgebaut worden ist. Anzunehmen, daß das Aminosäuregemisch als solches resorbiert und sogleich abgebaut wurde, erscheint gezwungen, weil wir dann unbedingt erwarten müßten, daß in diesem Falle, wie im Eiweißhunger, Körpereiwweiß zerfallen würde, und dieser Umstand müßte in der Stickstoffbilanz zum Ausdruck kommen! Sobald wir uns auf den Standpunkt stellen, daß in unserem Versuche das verabreichte verdaute Casein nicht zur Synthese von Körpereiwweiß verwendet worden ist, kommen wir zu gesuchten Erklärungen der oft positiven Stickstoffbilanz. Wir müssen dann eine fast gesetzmäßige Stickstoffretention annehmen. Wir kommen zu Begriffen, mit denen wir nichts anfangen können. Wir stützen uns vor allem auch auf die schon erwähnten Versuche des einen von uns mit Peter Rona. Es gelang nicht, Stickstoffgleichgewicht zu erhalten, wenn künstlich ein Gemisch von Aminosäuren dargestellt und verfüttert wurde, und ebenso negativ war der Versuch, das Nahrungseiweiß durch ein Gemisch von Eiweißspaltprodukten zu ersetzen, das durch Säurehydrolyse erhalten worden war. Auch dürfen wir nicht außer acht lassen, daß es bis jetzt nicht gelungen ist, mit Sicherheit jenseits des Darmes unter normalen Verhältnissen Eiweißabbauprodukte nachzuweisen. Wir können auch auf noch nicht veröffentlichte Versuche des einen von uns mit Peter Rona hinweisen, aus denen hervorgeht, daß der

Reststickstoff des Blutes in engen Grenzen gleichbleibt, ob man nun ein Hungertier untersucht oder ein Tier, das eben eine reichliche, eiweißreiche Kost verzehrt hat. Wir dürfen das Herabgehen des Körpergewichtes nicht zu sehr in den Vordergrund stellen. Die Nahrung war ja auf alle Fälle mangelhaft. Es fehlten gewiß viele andere Bausteine, z. B. die Bausteine der Kernsubstanzen, ferner das Glykokoll usw. Wir komplizierten unseren Versuch absichtlich nicht. Es genügt uns, daß es gelang, einen Hund mit einem fast nur aus Aminosäuren bestehenden Gemisch im Stickstoffgleichgewicht zu halten. Dieser Umstand bedeutet einen Fortschritt gegen den früheren Versuch des einen von uns mit Peter Rona, indem damals noch kompliziertere Aminosäureketten, wenn auch in geringer Menge, im verfütterten Verdauungsgemisch des Caseins nachzuweisen waren. Erwähnt sei noch, daß wir auch hier den gesamten Urin auf das Vorhandensein von Aminosäuren mit β -Naphthalinsulfochlorid geprüft haben. Wir erhielten in allen Perioden ein Reaktionsprodukt, das jedoch fast ausschließlich aus β -Naphthalinsulfamid bestand. Spuren von Aminosäuren waren wohl vorhanden. Selbst wenn größere Mengen von Aminosäuren nachzuweisen gewesen wären, würde das natürlich nichts gegen eine stattgehabte Eiweißsynthese aus dem Verdauungsgemisch sprechen, es brauchen ja nicht alle Bausteine Verwendung zu finden. Bei unseren Versuchen waren jedoch, wenn überhaupt, nur Spuren von Produkten vorhanden, die mit dem Eiweißstoffwechsel in Zusammenhang standen und mit β -Naphthalinsulfochlorid reagierten.

Wir setzen unsere Versuche fort und hoffen in Bälde eingehender alle unsere Erfahrungen im Zusammenhang diskutieren zu können.¹⁾ Vorläufig halten wir es für korrekter, der ganzen Frage keine bestimmte Folgerung anzuschließen, sondern das ganze Problem noch als offen zu betrachten. Es ist gewiß nicht ausgeschlossen, daß dieser Weg der Erforschung des Eiweißstoffwechsels unserer Vorstellung über diesen eine ganz neue Gestalt gibt.

Zu diesen Versuchen standen uns Mittel aus der Gräfin Bose-Stiftung zur Verfügung.

¹⁾ Wir werden dann auch auf die kritische Studie und die Untersuchungen von H. Lüthje, Zur Frage der Eiweißsynthese im tierischen Körper, Pflügers Archiv, Bd. CXIII, S. 547, 1906, eingehen.