

# Das Verhalten von d-Alanin im Organismus des Hundes unter verschiedenen Bedingungen.

Von

Emil Abderhalden, Alfred Gigon und E. S. London, St. Petersburg.

(Aus dem Chemischen Institut der Universität Berlin und der pathol. Abteilung des K. Instituts für experimentelle Medizin, St. Petersburg.)

(Der Redaktion zugegangen am 18. Juli 1907.)

Eine der wichtigsten Fragen in der Erforschung des Eiweißstoffwechsels ist die, in welcher Form die Verdauungsprodukte der Proteine aus dem Darne schließlich in den allgemeinen Kreislauf treten. Wiederholt ist im hiesigen Institute im Blute auf der Höhe der Verdauung und zu anderen Zeiten nach einfacheren Abbauprodukten der Proteine gefahndet worden, jedoch bis jetzt noch nie mit Erfolg.<sup>1)</sup> Allerdings sind ab und zu mit  $\beta$ -Naphthalinsulfochlorid Derivate erhalten worden, jedoch war es nie möglich, sie zu identifizieren. Ihre Menge war zu klein. Alle derartigen Versuche sind aus äußeren Gründen an Hunden und an Pferden ausgeführt worden. Wir haben uns nun die Frage gestellt, ob in den Kreislauf eingeführte Aminosäuren nach einiger Zeit im Blute noch nachweisbar sind, nachdem wir uns vorher überzeugt hatten, daß dem Blute in vitro zugegebene Aminosäuren leicht wieder in guten Ausbeuten zu gewinnen sind. So setzten wir einem Liter Pferdeblut 5 g d-Alanin zu und verdampften dann das Gemisch auf dem Wasserbade zur Trockene. Der Trockenrückstand wog 157 g. 90 g der fein gepulverten Masse kochten wir mit Wasser aus, filtrierten und engten das Filtrat unter vermindertem Druck ein. Den Rückstand veresterten wir in der gewohnten Weise mit Alkohol und trockener gasförmiger Salzsäure. Die Veresterung wurde dreimal wiederholt.

<sup>1)</sup> Vgl. Emil Abderhalden, Abbau und Aufbau der Eiweißkörper im tierischen Organismus, Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 17, 1905. — Emil Abderhalden, Casimir Funk und E. S. London, Weiterer Beitrag zur Frage nach der Assimilation des Nahrungseiweißes im tierischen Organismus, Ebenda, Bd. LI, S. 269, 1907.

Schließlich setzten wir die Ester mit Natriumalkoholat in Freiheit und destillierten die alkoholische Lösung der Ester bei 12 mm Druck bis zu 100° des Wasserbades. Das Destillat schüttelten wir dann mit wässriger Salzsäure und dampften es dann ein. Es hinterblieben 3,43 g Rückstand. Er bestand aus recht reinem salzsaurem d-Alanin.  $[\alpha]_{20}^D = + 8,62^\circ$ . Zu erwarten waren 4,0 g salzsaures Alanin. Im Rest des Blutalaninmisches bestimmten wir das d-Alanin mit Hilfe von  $\beta$ -Naphthalinsulfochlorid. Die Ausbeute war geringer als bei Anwendung der Estermethode.

Die folgenden Versuche sind an normalen Hunden und zugleich an Hunden, deren Leber teilweise und ganz ausgeschaltet worden war, ausgeführt. Die unten stehende Tabelle gibt eine Übersicht über die angestellten Versuche.

Was die Ausführung der Versuche anbetrifft, so wurde bei Versuch 1, 2, 4, 6 und 7 die Vena jugularis externa bloßgelegt und zwar ohne Anwendung von Narkose und dann das freigelegte Gefäßstück in der Mitte unterbunden. In den zentralen Abschnitt wurde dann eine Kanüle eingeführt und durch diese die Aminosäure in physiologischer Kochsalzlösung gelöst in den Kreislauf gebracht. Zugleich mit der Öffnung der zuführenden Kanüle wurde die im peripheren Ende der Vena jugularis externa eingebrachte Kanüle geöffnet. Es gelang, während ca. 20 Minuten den Kreislauf intravital aufrecht zu erhalten. Um möglichst das gesamte Blut zu gewinnen, wurde postmortal künstliche Atmung eingeleitet und mit 0,85%iger Kochsalzlösung (ca. 8—10 l) durchgespült, bis die aus dem peripheren Ende der Vena jugularis externa austretende Flüssigkeit nur noch hellgelb gefärbt war. Das Blut wurde dann eingedickt und getrocknet. Die Menge des eingeführten d-Alanins ( $[\alpha]_{20}^D = + 9,7^\circ$  in Normalsalzsäure) betrug in allen Fällen 8 g.

Bei Versuch 3 wurde das d-Alanin mittels einer Sonde in den Magen eingeführt und bei Versuch 5 in die Vena portae. Hier war das Tier narkotisiert worden.

Wir haben bei Versuch 1—5 auch den Urin auf Amino-

Nr. des Versuches	Körpergewicht in g	Art der dem Versuche vorhergegangenen Operation	Intervall zwischen der Operation und dem Versuche		Der Einführungsweg des d-Alanins	Dauer der Blutströmung in Minuten		Bemerkungen
			Tage	Stunden		intra-vital	unter künstlicher Atmung	
1	15,150	Ecksche Operation und gleich darauf Unterbindung der a. hepatica communis	—	23 <sup>1/2</sup>	Zentraler Abschnitt der v. jug. ext.	21	49	Vergiftungserscheinungen: Schwäche. 195 ccm Urin aus der Harnblase aufgenommen und eingetrocknet.
2	16,700	Ecksche Operation und 46 Tage danach Unterbindung der a. hepatica communis	—	17 <sup>1/2</sup>	Dasselbe	22	60	Vergiftungserscheinungen: Coma. 105 ccm Urin aus der Harnblase aufgenommen und eingetrocknet.
3	19,750	Ecksche Operation und gleich darauf Unterbindung der a. hepatica communis	—	14 <sup>1/2</sup>	Magen vermittelst einer Sonde	2	105	Vergiftungserscheinungen: Schweres Coma. 215 ccm Urin und der Magendarminhalt aufgenommen und eingetrocknet.
4	21,800	Keine Operation Kontrollhund	—	—	Zentraler Abschnitt der v. jug. ext.	19	40	55 ccm Urin aus der Harnblase eingetrocknet.
5	20,120	Keine Operation	—	—	V. portae	23	41	Versuch unter Morphinum-Chloroformnarkose. 40 ccm Urin aus der Harnblase eingetrocknet.
6	13,100	Anastomose zwischen v. portae und cava mit Unterbindung nur eines Astes der v. portae	—	21	Zentraler Abschnitt der v. jug. ext.	17	42	Bei der Sektion erwies sich die Anastomose durch einen Thrombus verstopft. Kein Urin.
7	11,400	Ecksche Operation	12	—	Dasselbe	21	35	Kein Urin.

säuren untersucht und zwar mit Hilfe von  $\beta$ -Naphtalinsulfochlorid. Die Verarbeitung des eingetrockneten Blutes auf d-Alanin geschah in folgender Weise. Das Blut wurde fein zerrieben und dann mit 2 l Wasser gründlich ausgekocht. Das Filtrat dampften wir dann unter vermindertem Druck zur Trockene ein und veresterten den Rückstand in der gewohnten Weise mit Alkohol und gasförmiger, trockener Salzsäure. Die Veresterung wurde zweimal wiederholt und die Ester schließlich mit der auf den Chlorgehalt berechneten Menge Natriumäthylat in Freiheit gesetzt. Die Ester wurden dann bei 12 mm Druck bis zu 100° des Wasserbades destilliert, das Destillat in einer sorgfältig gekühlten Vorlage aufgefangen und dieses dann mit verdünnter wässriger Salzsäure gut durchgeschüttelt und zur Trockene verdampft. Den Rückstand lösten wir in Wasser, kochten die meist etwas gefärbte Lösung mit Tierkohle und dampften dann die nunmehr farblose Flüssigkeit zur Trockene ein. Das verbleibende salzsaure d-Alanin trockneten wir über Kalk und Schwefelsäure bis zur Gewichtskonstanz und bestimmten dann sein Drehungsvermögen. Im folgenden sind die Resultate angeführt:

Hund Nr. 1: Völlige Ausschaltung der Leber. 8 g d-Alanin in die Vena jugularis externa eingeführt. Gewicht des eingetrockneten Blutes 262 g. Erhalten an salzsaurem d-Alanin 0,60 g.  $[\alpha]_D^{20} = + 8,60^\circ$ .

Der Urin gab mit  $\beta$ -Naphtalinsulfochlorid nur eine geringe Reaktion. Das isolierte Produkt bestand zum größten Teil aus  $\beta$ -Naphtalinsulfamid. An reinem  $\beta$ -Naphtalinsulfo-d-alanin erhielten wir 0,25 g. F. des bei 85° getrockneten Produktes gegen 128,0° (unkorr.).

Hund Nr. 2: Völlige Ausschaltung der Leber. 8 g d-Alanin in die Vena jugularis externa eingeführt. Gewicht des getrockneten Blutes 301 g. Isoliert 0,45 g salzsaures d-Alanin.  $[\alpha]_D^{20} = + 8,85^\circ$ .

Aus dem Urin gewannen wir 0,55 g  $\beta$ -Naphtalinsulfo-d-alanin. Das bei 85° getrocknete Präparat schmolz gegen 127° (unkorr.).

Hund Nr. 3: Völlige Ausschaltung der Leber. 8 g d-Alanin in den Magen eingeführt. Gewicht des getrockneten Blutes 395 g. Isoliert 0,21 g salzsaures d-Alanin.  $[\alpha]_{20}^D = + 8,95^\circ$ .

Der Urin gab mit  $\beta$ -Naphthalinsulfochlorid eine starke Reaktion. Isoliert wurden 0,55 g  $\beta$ -Naphthalinsulfo-d-alanin vom Schmelzpunkt  $128^\circ$  (unkorr.).

Um zu entscheiden, ob alles d-Alanin nach Abbruch des Versuches zur Resorption gelangt war, haben wir den Magendarminhalt aufgesammelt und eingetrocknet. Die Trockensubstanz dieses Produktes betrug 69 g. Die Verarbeitung auf d-Alanin war dieselbe, wie in allen übrigen Versuchen. Wir erhielten 0,74 g salzsaures Alanin.  $[\alpha]_{20}^D = + 8,2^\circ$ . Es war somit nur ein kleiner Teil des d-Alanins noch unresorbiert geblieben.

Hund Nr. 4: Normaler Hund. 8 g d-Alanin in die Vena jugularis externa eingeführt. Gewicht des getrockneten Blutes 441 g. Isoliert 2,36 g salzsaures d-Alanin.  $[\alpha]_{20}^D = + 10,0^\circ$ .

Aus dem Harn gewannen wir 0,21 g  $\beta$ -Naphthalinsulfo-d-alanin. F. gegen  $126^\circ$  (unkorr.), dreht nach links.

Hund Nr. 5: Normaler Hund. 8 g d-Alanin in die Vena portae eingeführt. Gewicht des getrockneten Blutes 377 g. Isoliert 1,40 g salzsaures d-Alanin.  $[\alpha]_D^{20} = + 6,2^\circ$ . Das Präparat war offenbar noch nicht ganz rein.

Der Urin enthielt 0,15 g  $\beta$ -Naphthalinsulfo-d-alanin. F. gegen  $128^\circ$  (unkorr.).

Hund Nr. 6: Anastomose zwischen Vena portae und cava mit Unterbindung nur eines Astes der Vena portarum. 8,0 g d-Alanin in die Vena jugularis externa eingeführt. Gewicht des getrockneten Blutes 212 g. Isoliert 0,21 g salzsaures d-Alanin.  $[\alpha]_{20}^D = + 9,8^\circ$ .

Hund Nr. 7: Ecksche Operation. 8 g d-Alanin in die Vena jugularis externa eingeführt. Gewicht des getrockneten Blutes 258 g. Isoliert 0,13 g salzsaures d-Alanin.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß die isolierten Mengen Alanin nur Minimalwerte darstellen. Wir wollen aus diesem Grunde die Frage noch nicht diskutieren, was aus dem nicht mehr nachweisbaren Alanin geworden ist, sondern weitere Versuche abwarten. Jedenfalls ließ sich in jedem einzelnen Falle unverändertes Alanin nachweisen und zwar auch dann, wenn Alanin vom Magen aus zur Resorption gelangt war. Dieser Befund erscheint uns von Bedeutung, denn er zeigt, daß selbst kleine Mengen von Aminosäuren im Blut mit den von uns verwendeten Methoden nachweisbar sind, und daß bei Einführung von Aminosäuren — wenigstens gilt dies für das d-Alanin — diese als solche, wenigstens zum Teil, im Blute zirkulieren und nicht etwa gleich abgebaut werden. Dafür sprachen übrigens bereits die Befunde von Aminosäuren im Harn nach Verfütterung größerer Mengen von solchen. Wären im Blute während der Verdauung Aminosäuren in irgendwie erheblichen Mengen vorhanden, so müßten sie sich unbedingt nachweisen lassen. Wir werden unsere Versuche nach dieser Richtung wieder aufnehmen. Sie werden vielleicht zur Entscheidung der Frage nach dem Orte des Eiweißaufbaues aus den resorbierten Eiweißabbauprodukten führen und uns gleichzeitig einen Einblick in die Art der Eiweißsynthese geben. Hervorheben wollen wir noch die auffallende Erscheinung, daß die Normaltiere viel höhere Alaninwerte lieferten, als diejenigen Tiere, deren Leber ausgeschaltet war. Wir hatten gerade das Umgekehrte erwartet. Wir können vorläufig keine bestimmte Erklärung für diese Erscheinung geben. Von Interesse ist der Umstand, daß die operierten Tiere im allgemeinen bedeutendere Mengen von d-Alanin im Urin aufwiesen als die Normaltiere. Dieselbe Erfahrung machten wir bei Verfütterung von l-Tyrosin und dl-Phenylalanin. Bei Eckschen Fistelhunden ließen sich diese Aminosäuren im Urin schon bei Verabreichung von Mengen nachweisen, welche bei normalen Hunden noch zu keiner Ausscheidung von solchen im Harne führen. Auch beim Versuche, einen Eckschen Fistelhund mit abgebautem Casein im Stickstoffgleichgewicht zu erhalten, fanden wir im Urin bedeutende Mengen von Aminosäuren. Bei normalen Hunden war dies bei Verabreichung desselben Futters nicht der Fall.

---