

Über den Abbau von 2,5-Diketopiperazinen im Organismus des Kaninchens.

II. Mitteilung.

Von

Emil Abderhalden und L. Wacker.

(Aus dem physiologischen Institute der tierärztlichen Hochschule, Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 26. August 1908.)

Der eine von uns ¹⁾ hat kürzlich Beobachtungen mitgeteilt über den Abbau von Glycinanhydrid, dl-Alaninanhydrid und von dl-Serinanhydrid im Organismus des Kaninchens. Im Harn traten Glykokoll, l-Alanin und d-Serin auf. Die Ausbeuten an diesen Substanzen waren in allen Fällen im Verhältnis zur eingeführten Menge an Diketopiperazin sehr geringe. Jedenfalls war ein Teil des verfütterten Anhydrids gespalten worden. Es blieb fraglich, auf welchem Wege der Abbau erfolgt war. Es waren zwar die dem Glycinanhydrid und dem Alaninanhydrid entsprechenden Dipeptide Glycyl-glycin und Alanyl-alanin beobachtet worden; es blieb jedoch unentschieden, ob diese Verbindungen im Harn primär vorhanden waren, oder sich erst sekundär durch die angewandte Methode aus den entsprechenden Anhydriden gebildet hatten. Diese Frage mußte sich durch Anwendung eines Anhydrids entscheiden lassen, das durch Alkali nur sehr schwer aufgespalten wird. Wir verwendeten Leucyl-glycinanhydrid.

Zunächst wiederholten wir die Versuche mit Glycinanhydrid. Es konnten auch hier nach Eingabe von 10 g Glycinanhydrid an ein 2,2 kg schweres Kaninchen β -Naphthalinsulfo-

¹⁾ Emil Abderhalden, Über den Abbau von 2,5-Diketopiperazinen im Organismus des Kaninchens. Diese Zeitschrift, Bd. LV, S. 384, 1908.

glycin (0,45 g) und β -Naphthalinsulfo-glycyl-glycin (0,75 g) isoliert werden. Der größte Teil des Anhydrids erschien unverändert im Urin. Es wurden 5,5 g reines Glycinanhydrid zurückgewonnen. In einem andern Falle erhielten wir 7,5 g Glycinanhydrid nach Zufuhr von 10 g zurück. Bei diesem Versuche gewannen wir 0,32 g β -Naphthalinsulfoglycin. Das Dipeptid konnte nicht isoliert werden. In anderen Fällen erhielten wir weder Glykokoll noch Glycyl-glycin. Die verschiedenen Versuchstiere verhielten sich sehr verschieden. Bald trat schon nach wenigen Stunden nach der Eingabe des Glycinanhydrids reichliche Urinabscheidung ein, bald erfolgte diese erst nach 2—3 Tagen. Der Urin war stets ganz klar. Erst beim Abkühlen trat reichliche Krystallisation von Glycinanhydrid ein. Der Harn war oft so mit Glycinanhydrid übersättigt, daß er ganz plötzlich erstarrte. Jedenfalls geht aus diesen Versuchen hervor, daß der Kaninchenorganismus bei plötzlicher Zufuhr großer Mengen von Glycinanhydrid nur einen kleinen Teil davon abbaut. Die Hauptmenge des Anhydrids wird unverändert ausgeschieden, ein kleiner Teil erscheint als Dipeptid und als Glykokoll im Harn, ein Teil dieses letzteren Produktes wird jedenfalls vollständig verbrannt.

Um zu entscheiden, ob bereits im Magen eine Aufspaltung des Glycinanhydrids erfolgt, gaben wir einem Kaninchen von 1,62 kg Gewicht 10 g Glycinanhydrid. Es wurde mit Kohl zusammen im Verlauf von ca. 2 Stunden aufgenommen. 2 $\frac{1}{4}$ Stunden nach dem Beginne der Fütterung wurde das Versuchstier durch Verbluten getötet und sofort sein Mageninhalt mit Wasser ausgekocht. Es konnten 1,4 g Glycinanhydrid isoliert werden. Glykokoll und Glycyl-glycin waren nicht nachweisbar. Wir untersuchten auch das Blut. Es enthielt Glycinanhydrid, allerdings in nur sehr geringer Menge. Ablagerungen dieses Anhydrids in den Geweben waren nicht vorhanden. Auch die Nieren wiesen nirgends krystallinische Abscheidungen auf. Es ist auffallend, daß so große Mengen eines so schwer löslichen Körpers in kürzester Zeit von der Darmwand aufgenommen und nach den Nieren geführt werden, ohne daß es zum Ausfallen von Krystallen kommt. Der tierische Organismus hilft

sich offenbar dadurch, daß er in einem bestimmten Momente nur geringe Mengen solcher Substanzen im Blut fortführt und sie gleich zur Ausscheidung bringt. Interessant ist die reichliche Urinabscheidung, die meist — jedoch nicht immer — nach Zufuhr von Glycinanhydrid eintrat. So sezernierte ein 1620 g schweres Kaninchen, das täglich 2,5 g Glycinanhydrid erhielt, am 1. Tage 300 ccm, am 2. Tage 345 ccm und am 3. Tage 390 ccm Urin. In der Harnblase des getöteten Kaninchens befanden sich 18 ccm Urin. Sie enthielten 0,25 g Glycinanhydrid.

Wir haben weiterhin Versuche mit dl-Leucyl-glycinanhydrid ausgeführt. Das erhaltene Resultat war dasselbe, wie bei den mit Glycinanhydrid angestellten Versuchen. Auch hier zeigten sich individuelle Unterschiede. Bald wurde der größte Teil des eingeführten Leucyl-glycinanhydrids unverändert ausgeschieden, bald ließ sich neben geringeren Mengen des Anhydrids d-Leucin nachweisen. Wir glauben auch das durch Aufspaltung des Leucyl-glycinanhydrids entstandene Dipeptid isoliert zu haben und zwar Leucyl-glycin. Wir gewannen es als β -Naphthalinsulfoverbindung und verglichen das gewonnene Derivat mit synthetisch dargestelltem β -Naphthalinsulfo-dl-leucyl-glycin. Es schmilzt bei 104—105° (unkorr.) und liefert ein leicht lösliches Baryumsalz, während das β -Naphthalinsulfo-glycyl-dl-leucin gegen 123—124° (unkorr.) schmilzt und ein schwer lösliches Baryumsalz bildet. Wir konnten leider den Beweis zu keinem zwingenden gestalten, weil die isolierte Menge an Dipeptid nur sehr gering war. Es unterliegt keinem Zweifel, daß die uns zurzeit zur Verfügung stehenden Methoden zur Isolierung von Polypeptiden und Aminosäuren aus Urin nicht ausreichen, sobald der Harn mehrere dieser Produkte enthält. Nur durch Kombination verschiedener Methoden ist es in einzelnen Fällen möglich, zum Ziel zu gelangen. So konnten wir in einem Falle nach Fällung des verdünnten Harns mit basischem Bleiacetat durch direkte Krystallisation d-Leucin isolieren und zwar 0,68 g nach Verabreichung von 10 g dl-Leucyl-glycinanhydrid. Das d-Leucin zeigte $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -14,05^\circ$ in 21%iger Salzsäure gelöst.

0,2138 g Leucin in 21 %iger Salzsäure gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 4,5800 g. Spezifisches Gewicht 1,10 g. $[\alpha] = -0,72^\circ$ im 1-dm-Rohr bei Natriumlicht.

Die Mutterlauge vom d-Leucin drehte nach links. Sie schied bei weiterem Einengen nach Zusatz von Alkohol Kristalle ab, die gegen 248° schmolzen. Beim Umkrystallisieren aus Wasser unter Zusatz von Alkohol bildeten sich vereinzelt Nadelchen. d-Leucin lag nicht vor und ebenso ist nach allen Eigenschaften Leucyl-glycinanhydrid ausgeschlossen. Es ist möglich, daß d-Leucyl-glycin vorlag. Zu einer einwandfreien Entscheidung reichte das Material nicht aus. Mit Sicherheit festgestellt ist nur das d-Leucin. Wir gehen wohl nicht fehl, wenn wir annehmen, daß der Abbau des dl-Leucyl-glycinanhydrids zunächst mit seiner Aufspaltung zum Dipeptid einsetzt und dieses dann zunächst asymmetrisch zerfällt. Nach allen unseren Erfahrungen über die Spaltung von racemischen Polypeptiden durch peptolytische Fermente ist zu erwarten, daß aus dem gebildeten Dipeptid l-Leucin abgespalten wird und d-Leucyl-glycin resp. Glycyl-d-leucin übrig bleibt. Beide Dipeptide werden dann offenbar, zum Teil wenigstens, in d-Leucin und Glykokoll zerlegt. Die Schwierigkeiten in der eindeutigen Entscheidung der Frage nach dem Abbau des dl-Leucyl-glycinanhydrids sind deshalb so große, weil aus dem Anhydrid zwei Dipeptide, nämlich dl-Leucyl-glycin und Glycyl-dl-leucin hervorgehen können. Es ist wohl möglich, daß beide entstehen, und daß die Mannigfaltigkeit der entstehenden Produkte die Ursache ist, weshalb es nicht glücken wollte, mit β -Naphthalinsulfochlorid zu ganz reinen, einheitlichen Produkten zu gelangen. Wir haben auch im erwähnten Falle nach Abtrennung des d-Leucins in der üblichen Weise mit β -Naphthalinsulfochlorid auf Spaltprodukte gefahndet. Es ist jedoch nicht geglückt, in genügender Menge ein völlig reines Produkt zu gewinnen.

Wir können jedenfalls als festgestellt betrachten, daß im Kaninchenorganismus auch das dl-Leucyl-glycinanhydrid zum Teil — allerdings, wie es scheint, zum geringsten Teil — aufgespalten und dann in seine Komponenten zerlegt wird. Sicher nachgewiesen ist d-Leucin.
