

Über das Verhalten von α -Pyrrolidincarbonsäure im tierischen Organismus.

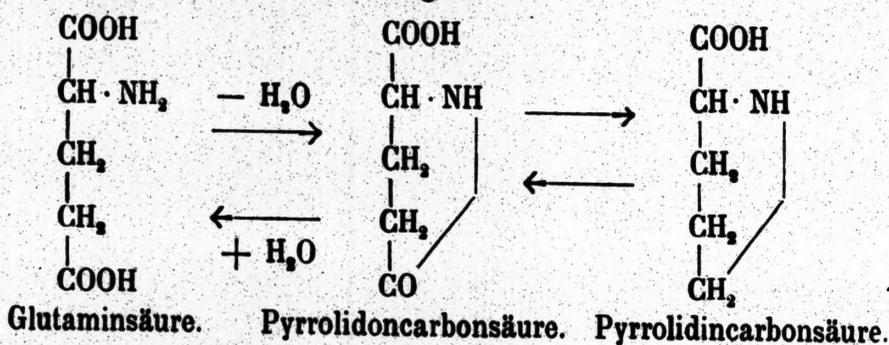
Von

Emil Abderhalden und Rudolf Hanslian.

(Aus dem physiologischen Institute der Universität Halle a. S.)

(Der Redaktion zugegangen am 30. August 1912.)

Die nahen chemischen Beziehungen der Glutaminsäure zur Pyrrolidincarbonsäure und damit zur Pyrrolidincarbon-säure machen es wahrscheinlich, das auch im Organismus des Tieres und der Pflanze diese drei Verbindungen in Wechselbeziehung treten. Als Zwischenprodukt wäre die Pyrrolidincarbonsäure aufzufassen, die einmal durch Reduktion in Pyrrolidincarbon-säure und durch Aufspaltung in Glutaminsäure übergehen kann, wie die folgenden Formeln zeigen.



Es sind im hiesigen Institute Untersuchungen im Gange, um zu prüfen, ob eine biologische Umwandlung von Pyrrolidincarbonsäure in die beiden genannten Säuren stattfindet. Wir haben uns zunächst die Frage vorgelegt, ob die Pyrrolidincarbonsäure im tierischen Organismus abgebaut wird. Die ersten Versuche wurden mit der optisch-aktiven Säure durchgeführt. Sie ergaben kein bestimmtes Resultat. Es schien, als ob die per os und auch subcutan eingeführte Säure spurlos verschwände. Wir wagten aus diesem Ergebnis keine bestimmten Schlüsse zu ziehen, weil die Möglichkeit bestand, daß die Ausscheidung der Pyrrolidincarbonsäure eine sehr langsame ist, und sie deshalb dem Nachweis ent-

ging. Eindeutige Resultate erhielten wir nach Verwendung von racemischer Pyrrolidoncarbonsäure. Es erschien im Harn **d-Pyrrolidoncarbonsäure**, woraus hervorgeht, daß die l-Komponente verändert — höchst wahrscheinlich abgebaut wurde. Damit ist bewiesen, daß der tierische Organismus und speziell das Kaninchen l-Pyrrolidoncarbonsäure verwerten kann. Bemerkte sei noch, daß Versuche am Menschen es wahrscheinlich machen, daß von diesem auch die d-Komponente in großem Umfange umgewandelt wird, wenigstens erschien im Harn keine Spur der eingeführten Säure wieder.

Zur vorläufigen Prüfung auf im Harn ausgeschiedene Pyrrolidoncarbonsäure verwendeten wir mit großem Erfolge die van Slykesche Methode. Wir bestimmten den Aminostickstoffgehalt des Harnes zunächst direkt und dann nach erfolgtem Kochen des Harnes mit Säure. Da die Pyrrolidoncarbonsäure als solche keinen Aminostickstoff enthält und dieser erst nach erfolgter Aufspaltung zu Glutaminsäure in Erscheinung tritt, wies eine erhebliche Vermehrung des Aminostickstoffgehaltes im Harn nach erfolgtem Kochen mit Säuren auf die Anwesenheit der gesuchten Säure hin.

Bemerkte sei noch, daß wir beobachtet haben, daß das Natriumsalz der Pyrrolidoncarbonsäure beim Lösen in Wasser eine ganz beträchtliche Temperaturabnahme zeigt.

Ganz indifferent scheint die Pyrrolidoncarbonsäure übrigens nicht zu sein. Nach Zufuhr von 14 und 25 g per os starben zwei Kaninchen. In beiden Fällen ergab die Sektion stark geblähten Dickdarm mit Entzündungserscheinungen. Beim Menschen zeigte sich starke Diarrhöe.

Experimenteller Teil.

Die zu den Versuchen verwendete dl-Pyrrolidoncarbonsäure stellten wir durch Erhitzen reiner Glutaminsäure im Ölbad auf $180\text{--}185^\circ$ dar. Die erhaltene reine Substanz besaß einen Schmelzpunkt von 181° und eine optische Drehung gleich ± 0 . In Berücksichtigung ihres stark sauren Geschmackes bevorzugten wir die Anwendung als Natriumsalz.

1. Versuch.

10 g dl-Pyrrolidoncarbonsäure wurden in 40 ccm Wasser gelöst und mit der berechneten Menge Natriumbicarbonat (6,5 g neutralisiert¹⁾). Nach Entfernung der Kohlensäure führten wir die ganze Lösung auf einmal einem Kaninchen mittels Schlundsonde zu.

1. Tag.

Gesamtmenge des Harns	= 210 ccm
Drehung im 10 cm-Rohr	= + 0,1°
Gesamtstickstoff	= 0,368 g in 100 ccm Harn
Aminostickstoff	= 0,0325 g » »

Aminostickstoff nach 6 stündiger Hydrolyse mit verdünnter Schwefelsäure: (40 ccm Harn + 60 ccm verd. H_2SO_4 auf dem Wasserbade gekocht) = 0,1045 g in 100 ccm Harn
Zunahme an Aminostickstoff = 0,072 g in 100 ccm Harn.

2. Tag.

Gesamtmenge des Harns	= 95 ccm
Drehung im 10 cm-Rohr	= + 0°
Gesamtstickstoff	= 1,167 g in 100 ccm Harn
Aminostickstoff	= 0,0965 g » »
» nach der Hydrolyse	= 0,0913 g » »
Zunahme von Aminostickstoff	= 0.

Die Harnmenge des ersten Tages wurde auf dem Wasserbade eingedampft, der Rückstand in 70%igem Alkohol gelöst, wiederum eingedampft und in wenig Wasser aufgenommen. Diese Lösung kochten wir mit einer überschüssigen Menge von Calciumcarbonat und filtrierten in das etwa 5fache Volumen absoluten Alkohols. In der Kälte schieden sich nach längerem Stehen geringe Mengen eines voluminösen Niederschlags ab. Abfiltriert

¹⁾ Während das Lösen der freien Säure augenscheinlich mit keinerlei Temperaturabfall verbunden ist, zeigt sich bei der Auflösung des Natriumsalzes eine beträchtliche Temperaturabnahme. So konstatierten wir beispielsweise beim Lösen von 10 g Säure und 6,5 g $NaHCO_3$ in 40 ccm Wasser von 18° einen Abfall der Temperatur von 20° auf + 3°. Wir behalten uns eine genauere Untersuchung dieser Erscheinung vor.

und getrocknet erhielten wir 0,03 g Calciumsalz einer infolge Mangels an Untersuchungsmaterial nicht näher zu identifizierenden Säure.

2. Versuch.

Einem Kaninchen werden 28 g dl-pyrrolidoncarbonsaures Natrium, gelöst in physiologischer Kochsalzlösung, subcutan eingespritzt — innerhalb eines Tages viermal je 5 g und einmal 8 g. Das Versuchstier befindet sich tagsüber wohlauf, nachts erfolgt der Tod.

Bei der Obduktion zeigt sich, daß an zwei Stellen die injizierte Flüssigkeit nicht resorbiert worden ist. In der Blase ist reichlich Harn vorhanden, welcher dem abgesehenen zugefügt wird.

Gesamtmenge Harn	= 280 ccm
Drehung im 2 cm-Rohr	= + 0,5 „
Gesamtstickstoff	= 0,812 g in 100 ccm
Aminostickstoff	= 0,03579 „ „ 100 „
Aminostickstoff nach der Hydrolyse	= 0,239 „ „ 100 „
Zunahme an Aminostickstoff	= 0,203 „ „ 100 „

Der eingedampfte Harn wurde wie bei Versuch 1 weiter behandelt. Wir versuchten jedoch in diesem Falle nicht das Calcium-, sondern das Baryumsalz darzustellen. Wir kochten zu diesem Zweck die Lösung mit überschüssigem Baryumcarbonat und filtrierten in das fünffache Volumen Alkohol. In der Kälte schieden sich reichliche Mengen Baryumsalz ab. Dieses wurde im Thermostaten bei 110° getrocknet und wegen seiner stark hygroskopischen Eigenschaften im Vakuumexsikkator über Phosphorpentoxyd aufbewahrt. Die Ausbeute betrug 0,9327 g. Zu gleicher Zeit stellten wir zum Vergleich in derselben Weise das Baryumsalz der dl-Pyrrolidonsäure dar.

0,5298 g der zu untersuchenden Substanz und ferner 1,6443 g des pyrrolidoncarbonsauren Baryums wurden in wässriger Lösung mit der berechneten Menge $\frac{1}{10}$ -n-Schwefelsäure in der Kälte versetzt. Nach Absitzen des Niederschlags wurde die überstehende klare Flüssigkeit je mit 1 Tropfen $\frac{1}{10}$ -n- H_2SO_4 auf Baryum geprüft. Die Reaktion war negativ. Das abfiltrierte

Baryumsulfat wurde getrocknet, das Filter für sich verascht und das Ganze im Platintiegel bis zur Konstanz geglüht.

1,6443 g Baryumpyrrolidonat gaben 0,9766 g BaSO_4
 $= 0,5748$ g Ba.

Theoretischer Wert $= 0,5742$ » »

0,5298 g des zu untersuchenden Baryumsalzes gaben 0,3126 g
 $\text{BaSO}_4 = 0,1844$ g Ba.

Theoretischer Wert $= 0,1850$ » »

Die beiden Zahlen stimmen sowohl untereinander wie mit dem theoretischen Wert sehr gut überein. Wir glaubten uns daher zu der Annahme berechtigt, daß das isolierte Baryum-
 salz pyrrolidoncarbonsaures Baryum war. In diesem Falle mußte in der vom Niederschlag abfiltrierten Flüssigkeit 0,3475 g der freien Pyrrolidoncarbonsäure vorhanden sein. Auf diesen Wert bezogen betrug die spezifische Drehung der Lösung
 $[\alpha]_{20}^D = + 5,706^\circ$.

Um die freie Säure zu isolieren, wurde die Lösung eingedampft, in Äthylalkohol aufgenommen und mit überschüssigem Äther gefällt. Bei längerem Stehen in Eissalzgemisch schied sich eine ölartige Schicht ab, welche allmählich, vorsichtig mit geringen Mengen Methylalkohol verrieben, krystallinisch erstarrte. Die Substanz besaß die spezifische Drehung $[\alpha]_{20}^D = + 8,57^\circ$.

Ihr Schmelzpunkt lag bei 162° . Der Stickstoffgehalt, nach Kjeldahl bestimmt, betrug im Durchschnitt 10,78%, der theoretische Wert berechnet sich auf 10,85%.

0,1935 g verbrauchen 50,00 ccm

— 14,9 »

35,1 ccm $\frac{1}{10}$ -n- $\text{H}_2\text{SO}_4 = 10,79\%$

0,2036 g verbrauchen 50,00 ccm

— 15,65 »

34,35 ccm $\frac{1}{10}$ -n- $\text{H}_2\text{SO}_4 = 10,77\%$

Es war somit nach Zufuhr von dl-Pyrrolidoncarbonsäure optisch nicht ganz reine d-Pyrrolidoncarbonsäure zur Ausscheidung gelangt.