

## Beiträge zur Muskelchemie.

### VI. Mitteilung.

Der freie durch Formol titrierbare Aminosäurestickstoff  
und der Gesamtextraktivstickstoff im Muskelgewebe von  
hungernden Tieren.

Von

G. Buglia und A. Costantino.

(Aus der chemisch-physiologischen Abteilung der zoologischen Station zu Neapel.)  
(Der Redaktion zugegangen am 20. Februar 1913.)

Während zahlreiche Untersuchungen über den allgemeinen Stoffumsatz des hungernden Organismus existieren, ist die Kenntnis der chemischen Veränderungen, welche dabei in den Organen und Geweben vor sich gehen, nur gering. Wenn wir von den Veränderungen der mineralischen Bestandteile absehen, müssen wir sagen, daß sich nur Angaben über die Änderungen des Gewichts (Bidder und Schmidt, Choshat, Voit)<sup>1)</sup>, Änderungen des Wassergehalts (Lukjanow,<sup>2)</sup> Voit<sup>3)</sup>), Änderungen im Fettgehalt (Schulz,<sup>4)</sup> Pfeiffer<sup>5)</sup> und Änderungen des Glykogengehalts (Pflüger, Aducco<sup>6)</sup> usw.) finden, nichts ist dagegen mit Sicherheit über die Veränderungen der stickstoffhaltigen Verbindungen bekannt.

Welche Veränderungen erfahren während des Hungers

<sup>1)</sup> C. Voit, Handbuch der Physiol. d. Gesamtstoffw., Leipzig 1881; id. Zeitschrift f. Biolog., Bd. 30, S. 510, 1894.

<sup>2)</sup> S. M. Lukjanow, Diese Zeitschrift, Bd. 13, S. 339, 1889.

<sup>3)</sup> C. Voit, l. c.

<sup>4)</sup> Fr. N. Schulz, Pflügers Archiv, Bd. 66, S. 145, 1897.

<sup>5)</sup> L. Pfeiffer, Zeitschrift f. Biolog., Bd. 23, S. 340, 1887.

<sup>6)</sup> E. F. W. Pflüger, Pflügers Archiv, Bd. 76, S. 1, 1899. — V. Aducco (Influenza del diginno sopra il glicogeno del fegato e dei muscoli), Giornale della R. Accad. di Medicina, Anno 1889, numero 4—5.

die verschiedenen im Muskelgewebe enthaltenen Formen des Stickstoffs?

In der Hoffnung, einen nützlichen Beitrag zur Kenntnis dieser Frage zu liefern, haben wir einige Versuche über den Gehalt an freiem Aminostickstoff und an Gesamtextraktivstickstoff im Muskelgewebe von einerseits normal ernährten und andererseits längere Zeit hungernder Tiere angestellt. Wir haben dazu Hunde benutzt; zwei derselben wurden getötet, nachdem sie für eine gewisse Zeit normal ernährt worden waren, andere vier wurden dagegen getötet, nachdem sie verschieden lange, d. h. 12—25 Tage gehungert hatten. Während der Hungerperiode erhielten die Tiere soviel Wasser zu trinken, als sie wollten.

Einen Versuch stellten wir auch mit einem marinen Tier (*Octopus vulgaris*) an, dessen Muskelgewebe in chemischer Hinsicht von dem anderer höherer Tiere bedeutend abweicht: so ist z. B. der Gehalt des Muskels dieser Tiere an freiem Aminostickstoff und an Gesamtextraktivstickstoff außerordentlich hoch.<sup>1)</sup>

Die Bestimmungen des freien Aminostickstoffs und des Gesamtextraktivstickstoffs wurden in der Extraktionsflüssigkeit gemacht, die durch Schütteln der bei 80—90° getrockneten und fein pulverisierten Muskelsubstanz mit stark wässrigem Alkohol und daran anschließender Enteiweißung mit Baryt und Chlorbaryum erhalten worden war. Wir befolgten die von uns schon früher mehrfach beschriebene Methodik.<sup>2)</sup>

Zur Bestimmung des freien Aminostickstoffs benutzten wir die Formolmethode von Sørensen, und zu der des Gesamtextraktivstickstoffs die von Kjeldahl.

Gleichzeitig mit diesen Bestimmungen wurde auch der Gesamtstickstoff des Muskels (Kjeldahl), sowie der Trockenrückstand desselben bei 105—110° bestimmt.

Ebenso wie in unseren früheren Untersuchungen haben wir auch diesmal Bestimmungen des Aminostickstoffs in der Extraktionsflüssigkeit nach deren Hydrolyse mit Salzsäure ge-

<sup>1)</sup> G. Buglia und A. Costantino, Beiträge zur Muskelchemie. IV. Mitteilung. Diese Zeitschrift, Bd. 82, S. 439, 1912.

<sup>2)</sup> G. Buglia und A. Costantino, Diese Zeitschrift, Bd. 81, S. 82.

macht, um zu kontrollieren, ob die Enteiweißung der genannten Flüssigkeit eine vollständige gewesen war.

Wir geben im Detail nur das erste am Hunde ausgeführte Experiment wieder, während wir von den anderen direkt die auf 100 g bei 105—110° getrocknete Muskelsubstanz bezogenen Werte anführen.

#### A. Experimente am Hunde.

Während der Hungerperiode wurden die Tiere an der Kette gehalten und ihnen Wasser gegeben.

I. Versuch: Hund ♂ von 20 kg Gewicht, seit 24 Stunden hungernd, durch Entbluten getötet. Muskeln des rechten Vorderbeins.

a) Trockenrückstand des frischen Muskels bei 105 bis 110° beträgt 24,10%, Gesamtstickstoff in Prozenten der bei 105—110° getrockneten Substanz = 14,08.

b) Gesamt-N der Muskelextraktivstoffe. Bei 80° getrocknete Muskelsubstanz = 14,727 g (= 14,026 bei 105 bis 110°) + 180 ccm H<sub>2</sub>O + 20 ccm Alkohol.

156 ccm des Filtrats werden gegen Azolithmin neutralisiert, 4 ccm Phenolphthalein (1 g Phenolphthalein in 100 ccm Alkohol und 100 ccm Wasser) zugefügt und auf 250 ccm gebracht (Flüssigkeit A).

Flüssigkeit A. 50 ccm dienen zur Bestimmung des Gesamt-N der Muskelextraktivstoffe.

Gesamt-N der Muskelextraktivstoffe in Prozenten der bei 105—110° getrockneten Substanz = 1,57 g.

c) Freie Aminosäuren.

Flüssigkeit A. 50 ccm dienen zur Bestimmung des Formol-N.

$$\frac{\text{Ba(OH)}^2}{5} 7,8 \text{ ccm} - \frac{\text{HCl}}{5} 4,37 \text{ ccm} = 3,4 \text{ ccm.}$$

3,4 ccm — 0,2 ccm (Korrektion der Probe) = 3,2 ccm.

3,2 ccm × 2,8 = 8,96 mg.

Durch Formol titrierbarer Amino-N in Prozenten der bei 105—110° getrockneten Substanz = 0,409 g.

Flüssigkeit A. 50 ccm dienen zur Bestimmung des Ammoniak-N.

Ammoniak-N in Prozenten der bei 105—110° getrockneten Substanz = 0,059 g.

Durch Formol titrierbarer Aminosäure-N in Prozenten der bei 105—110° getrockneten Substanz 0,350 g.

d) Bestimmung des durch Formol titrierbaren Aminostickstoffs der Extraktionsflüssigkeiten nach der Hydrolyse mit Salzsäure (ca. 25%).

Flüssigkeit A. 50 ccm wurden mit 50 ccm rauchender Salzsäure 15 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Die hydrolysierte Flüssigkeit wurde auf dem Wasserbade bis zur Entfernung der Salzsäure verdampft. Der im Wasser gelöste Rückstand wurde zunächst mit Baryt nahezu neutralisiert und dann mit 25 ccm einer gesättigten methyllalkoholischen Barytlösung alkalisch gemacht. Diese Flüssigkeit dient zur Bestimmung des Ammoniakstickstoffs und wurde im Vakuum bei 40° bis zur Trockne destilliert. Der Aminostickstoff wurde in dem bei der Ammoniakdestillation verbleibenden Rückstand bestimmt (nach Sörensen). Ammoniak-N in Prozenten der bei 105—110° getrockneten Substanz = 0,24 g.

Durch Formol titrierbarer Aminosäure-N in Prozenten der bei 105—110° getrockneten Substanz = 0,55 g.

## II. Experiment.

Hund von 15,2 kg. Seit 12 Stunden hungernd. Getötet durch Entblutung. Muskeln des linken Vorderbeins.

a) Trockenrückstand des frischen Muskels bei 105—110° beträgt 23,38%, Gesamtstickstoff in Prozenten der bei 105 bis 110° getrockneten Substanz = 13,87 g.

b) Gesamt-N der Muskelextraktivstoffe = 1,69 g.

c) Freie Aminosäuren: Durch Formol titrierbarer Amino-N = 0,399 g; Ammoniak-N = 0,065 g.

Durch Formol titrierbarer Aminosäure-N = 0,334 g.

d) Bestimmung des durch Formol titrierbaren Aminostickstoffs der Extraktionsflüssigkeiten, nach der Hydrolyse mit

Salzsäure: Ammoniak-N = 0,24 g; durch Formol titrierbarer Aminosäure-N = 0,67 g.

### III. Experiment.

Hund von 10,40 kg. 12 Tage hungernd. Getötet durch Entblutung. Muskeln der vorderen Extremitäten.

a) Trockenrückstand des frischen Muskels bei 105—110° beträgt 23,35%. Werte in Prozenten der bei 105—110° getrockneten Substanz (10,135 g Trockensubstanz wurde zur Analyse verwendet):

b) Freie Aminosäuren: Durch Formol titrierbarer Amino-N = 0,44 g; Ammoniak-N = 0,032 g.

Durch Formol titrierbarer Aminosäure-N = 0,41 g.

c) Bestimmung des durch Formol titrierbaren Aminostickstoffs der Extraktionsflüssigkeiten, nach der Hydrolyse mit Salzsäure:

Ammoniak-N = 0,25 g; durch Formol titrierbarer Aminosäure-N = 0,52 g.

### IV. Experiment.

Hund von 7,70 kg. Seit 16 Tagen hungernd. Durch Entbluten getötet. Gewichtsverminderung 2,8 kg. Muskeln der vorderen Extremitäten.

a) Trockenrückstand des frischen Muskels bei 105—110° beträgt 21,31%, Gesamtstickstoff in Prozenten der bei 105 bis 110° getrockneten Substanz = 14,49 g.

Werte in Prozenten der bei 105—110° getrockneten Substanz (10,316 g Trockensubstanz wurde zur Analyse verwendet):

b) Gesamt-N der Muskelextraktivstoffe = 1,82 g.

c) Freie Aminosäuren: Durch Formol titrierbarer Amino-N = 0,49 g; Ammoniak-N = 0,059 g.

Durch Formol titrierbarer Aminosäure-N = 0,43 g.

d) Bestimmung des durch Formol titrierbaren Aminostickstoffs der Extraktionsflüssigkeiten, nach der Hydrolyse mit Salzsäure:

Ammoniak-N = 0,20 g; durch Formol titrierbarer Aminosäure-N = 0,44 g.

### V. Experiment.

Hund von 15,79 kg. 20 Tage hungernd. Getötet durch Entbluten. Gewichtsabnahme 3,00 kg. Muskeln der Vorderbeine.

a) Trockenrückstand des frischen Muskels bei 105—110° beträgt 23,09%, Gesamtstickstoff in Prozenten der bei 105 bis 110° getrockneten Substanz = 14,86 g.

Werte in Prozenten der bei 105°—110° getrockneten Substanz (11,118 g Trockensubstanz wurde zur Analyse verwendet):

b) Gesamt-N der Muskelextraktivstoffe = 1,75 g.

c) Freie Aminosäuren: Durch Formol titrierbarer Amino-N = 0,455 g; Ammoniak-N = 0.

Durch Formol titrierbarer Aminosäure-N = 0,45 g.

d) Bestimmung des durch Formol titrierbaren Aminostickstoffs der Extraktionsflüssigkeiten, nach der Hydrolyse mit Salzsäure: Ammoniak-N = 0,25 g; durch Formol titrierbarer Aminosäure-N = 0,68 g.

### VI. Experiment.

Hund von 15,200 kg. 25 Tage hungernd. Durch Entblutung getötet. Gewichtsabnahme 4,5 kg. Muskeln der Vorderbeine. Das Muskelgewebe ist schlaff und leicht zerreiblich.

a) Trockenrückstand des frischen Muskels bei 110° beträgt 23%, Gesamtstickstoff in Prozenten der bei 110° getrockneten Substanz = 14,01 g.

Werte in Prozenten der bei 105—110° getrockneten Substanz (11,391 g Trockensubstanz wurde zur Analyse verwendet):

b) Gesamt-N der Muskelextraktivstoffe = 1,72 g.

c) Freie Aminosäuren: Durch Formol titrierbarer Amino-N = 0,516 g; Ammoniak-N = 0,080 g.

Durch Formol titrierbarer Aminosäure-N = 0,436.

d) Bestimmung des durch Formol titrierbaren Aminostickstoffs der Extraktionsflüssigkeiten, nach der Hydrolyse mit Salzsäure: Ammoniak-N = 0,26 g; durch Formol titrierbarer Aminosäure-N = 0,70 g.

**B. Experimente an Octopus vulgaris.**

Die Tiere befanden sich während der Hungerperiode im Aquariumbassin.

**I. Experiment.**

*Octopus vulgaris*. Das Tier wurde einen Tag nach dem Einfang getötet. Benutzt wurde der Mantelmuskel.<sup>1)</sup>

a) Trockenrückstand des frischen Muskels bei 100° beträgt 23,31%, Gesamtstickstoff in Prozenten des frischen Muskels 3,24 g.

Werte in Prozenten der bei 110° getrockneten Substanz (12,165 g Trockensubstanz wurde zur Analyse verwendet):

b) Gesamt-N der Muskelextraktivstoffe = 4,35 g.

c) Freie Aminosäuren. Durch Formol titrierbarer Amino-N = 1,06 g, Ammoniak-N = 0,115 g.

Durch Formol titrierbarer Aminosäure-N = 0,945 g.

d) Bestimmung des durch Formol titrierbaren Amino-stickstoffs der Extraktionsflüssigkeiten nach der Hydrolyse mit Salzsäure:

Ammoniak-N = 0,234 g, durch Formol titrierbarer Aminosäure-N = 1,17 g.

**II. Experiment.**

*Octopus vulgaris*. Das Tier wurde wenige Stunden nach dem Einfang getötet. Benutzt wurde der Mantelmuskel.

Werte in Prozenten der bei 110° getrockneten Substanz (13,29 g Trockensubstanz wurde zur Analyse verwendet).

a) Freie Aminosäuren: Durch Formol titrierbarer Amino-N = 1,01 g, Ammoniak-N = 0,085 g.

Durch Formol titrierbarer Aminosäure-N = 0,93 g.

**III. Experiment.**

*Octopus vulgaris* seit 33 Tagen hungernd. Es wurde der Mantelmuskel benutzt.

<sup>1)</sup> Dieser Versuch wurde von uns schon früher publiziert. G. Buglia und A. Costantino, Beiträge zur Muskelchemie. IV. Mitteilung. Diese Zeitschrift, Bd. 82, S. 439, 1912.

a) Trockenrückstand des frischen Muskels bei 110° beträgt 21,13, Gesamtstickstoff in Prozenten des frischen Muskels 2,75 g.

Werte in Prozenten der bei 110° getrockneten Substanz (7,318 g Trockensubstanz wurde zur Analyse verwendet):

b) Gesamt-N der Muskelextraktivstoffe = 3,38 g.

c) Freie Aminosäuren: Durch Formol titrierbarer Amino-N = 0,93 g, Ammoniak-N = 0,114 g.

Durch Formol titrierbarer Aminosäure-N = 0,817 g.

| Tier                | Gewicht<br>des<br>Tieres<br>in kg | Dauer<br>der<br>Hunger-<br>periode<br>in Tagen | Gewichts-<br>ver-<br>min-<br>derung<br>in kg | Werte in Prozenten<br>des bei 105—110°<br>getrockneten Muskels |                                 |  | Werte in Prozenten<br>des frischen Muskels |                                 |  |
|---------------------|-----------------------------------|--|--|--|---------------------------------|--|--|---------------------------------|--|
|                     |                                   |  |  | Ge-<br>samt-<br>N<br>g   | Extrak-<br>tiv-<br>stoff-N<br>g | Freier durch<br>Formol<br>titrierbarer<br>Amino-<br>säure-N<br>g | Ge-<br>samt-<br>N<br>g                     | Extrak-<br>tiv-<br>stoff-N<br>g | Freier durch<br>Formol<br>titrierbarer<br>Amino-<br>säure-N<br>g |
| Hund                |                                   |  |  |  |                                 |  |  |                                 |  |
| I                   | 20,0                              | —  | —  | 14,08  | 1,57                            | 0,35   | 3,24                                       | 0,37                            | 0,084  |
| II                  | 15,2                              | —  | —  | 13,87  | 1,69                            | 0,33   | 3,39                                       | 0,39                            | 0,077  |
| III                 | 10,4                              | 12   | ?  | —  | —                               | 0,41   | —  | —                               | 0,095  |
| IV                  | 7,7                               | 16   | 2,8  | 14,49  | 1,82                            | 0,43   | 3,08                                       | 0,38                            | 0,091  |
| V                   | 15,8                              | 20   | 3,0  | 14,86  | 1,75                            | 0,45   | 3,43                                       | 0,40                            | 0,105  |
| VI                  | 15,2                              | 25   | 4,5  | 14,01  | 1,72                            | 0,43   | 3,22                                       | 0,39                            | 0,100  |
| Octopus<br>vulgaris |                                   |  |  |  |                                 |  |  |                                 |  |
| I                   | —                                 | —  | —  | 13,89  | 4,35                            | 0,94   | 3,24                                       | 1,07                            | 0,219  |
| II                  | —                                 | —  | —  | —  | —                               | 0,93   | —  | —                               | —  |
| III                 | —                                 | 33   | ?  | 13,02  | 3,38                            | 0,82   | 2,75                                       | 0,71                            | 0,173  |

In dieser Tabelle sind die in den verschiedenen Versuchen am Hund und an *Octopus vulgaris* erhaltenen Werte für den Gesamtstickstoff, den Extraktivstickstoff und den des freien Aminosäurestickstoffs vereinigt, und zwar bezogen sowohl auf 100 g ihrer bei 105—110° getrockneten Muskelsubstanz als auch auf 100 g ihres frischen Muskels.

## Schlußfolgerungen:

1. Aus den an hungernden Hunden (sie erhielten nur Wasser) angestellten Versuchen folgt, daß, (bezogen auf die bei 105—110° getrocknete Substanz) während einer Hungerperiode, die sich über 12—25 Tage erstreckt, folgendes zeigt:

a) keine bemerkenswerte Änderung in bezug auf den Gesamtstickstoff.

b) eine geringe Zunahme des Gesamtextraktivstickstoffs:

c) eine Zunahme des freien durch Formol titrierbaren Aminosäurestickstoffs und zwar um ungefähr ein Viertel des Wertes, der sich bei normal ernährten Tieren findet.

Auch bei Berechnung auf die frische Muskelsubstanz zeigt sich deutlich diese Zunahme des freien Aminosäurestickstoffs; der Gesamt-Extraktivstickstoff zeigt sich dagegen nahezu unverändert.

Vergleicht man weiterhin die Werte des freien durch Formol titrierbaren Aminosäurestickstoffs in bezug auf den in der Muskelsubstanz erhaltenen Gesamtstickstoff, so findet man, daß auch in diesem Falle derselbe bei hungernden Tieren höher ist. Dies schließt aus, daß diese Vermehrung des freien Aminosäurestickstoffs nur als eine scheinbare, durch die Verminderung des Fettes während des Hungers erklärbare, hingestellt werden könnte.

Weiter folgt aus den Zahlen, daß die Vermehrung des freien Aminosäurestickstoffs nicht eine progressive ist, sondern sich während einer verhältnismäßig langen Hungerperiode nahezu auf gleicher Höhe hält; dies würde darauf hindeuten, daß die Tendenz besteht, während des Hungerns das Verhältnis zwischen den zwei Arten des Stickstoffs konstant zu erhalten.

2. Die am *Octopus vulgaris* angestellten Versuche führten zu den entgegengesetzten Resultaten wie die am Hunde. Es zeigte sich nämlich sowohl eine Verminderung des Gesamtstickstoffs als auch eine Verminderung des Extraktiv- und des freien Aminosäurestickstoffs.

Aus den an den Hunden gemachten Versuchen folgt also als Hauptresultat, daß während des Hungerns (vom 12. bis

25. Tage) eine Vermehrung des freien Aminosäurestickstoffs im Muskelgewebe stattfindet. Wie läßt sich diese Vermehrung erklären? Man kann sich vorstellen, daß während des Hungerns und noch vor der mortalen Periode Zerfallserscheinungen der Proteine (zunächst der Reserveeiweißsubstanzen und dann auch des Organeiweißes) eintreten, wobei das Eiweißmolekül bis zu den einfachsten Spaltungsprodukten abgebaut wird, und es dadurch zur Vermehrung der sich normalerweise im Muskelgewebe findenden freien Aminosäuren kommt. Gleichzeitig scheint es jedoch auch nicht unwahrscheinlich, daß die Vermehrung der freien Aminosäuren nur eine scheinbare ist, indem während des Hungers nicht nur der allgemeine Stoffumsatz, sondern speziell der Stickstoffumsatz auf ein Minimum reduziert ist und damit auch die damit zusammenhängenden oxydativen Prozesse verlangsamt sind.<sup>1)</sup> Man müßte somit sagen, daß die von uns nachgewiesene Vermehrung der freien Aminosäuren die Folge einer verminderten Oxydation dieser Aminosäuren, die sich stets in einer gewissen Menge während des normalen Stoffwechsels im Muskelgewebe finden, ist.

Wahrscheinlich sind sowohl die oben genannten Spaltungen der Proteinsubstanzen als auch die verminderten Oxydationsprozesse die Faktoren, von denen in der Hauptsache die Vermehrung der freien Aminosäuren im Muskelgewebe abhängen; wie dem auch sei, die neuerdings von Francesio<sup>2)</sup> in einer Reihe genauer Untersuchungen über den freien Aminosäurestickstoff in dem Urin hungernder Hunde erhaltenen Resultate (die im Gegensatz zu früheren Versuchen von Brugsch und Hirsch<sup>3)</sup> und von Fuchs<sup>4)</sup> stehen) lassen den Schluß zu, daß die freien Aminosäuren des Muskels, die sich daselbst in vermehrter Menge während des Hungers an-

<sup>1)</sup> A. Pugliese (I processi di ossidazione negli animali a digiuno.) Estratto dagli atti della R. Accad. dei Fisio critici, Serie IV, Vol. V, p. 95 Anno 1893.

<sup>2)</sup> A. Francesio, demnächst erscheinende Publikation, Mitteilung von Dr. V. Scaffidi.

<sup>3)</sup> Th. Brugsch und R. Hirsch, Zeitschrift f. exp. Path. u. Therap., Bd. 1, S. 419, 1905.

<sup>4)</sup> D. Fuchs, Diese Zeitschrift, Bd. 69, S. 491, 1910.

sammeln, weniger als im normalen Zustand verwendet werden: denn der genannte Autor stellte fest, daß während des Hungers und zwar auch in dem ersten Stadium eine Vermehrung der freien Aminosäuren im Harn stattfindet.

Die Resultate, welche bei den Experimenten an *Octopus* v. erhalten wurden, genügen vor der Hand noch nicht, um sichere Schlüsse zu ziehen, obwohl sie darauf hinweisen, daß auch bei diesen Tieren während des Hungers Veränderungen in der chemischen Zusammensetzung der Muskulatur stattfinden. Weitere Untersuchungen müssen hier noch folgen.

---