

Der Abbau des dl-Leucyl-glycins und des dl-Leucyl-glycyl-glycins im Organismus des Kaninchens.

Von

Emil Abderhalden und Karl Kautzsch.

(Aus dem I. Chemischen Institut der Universität Berlin.)
(Der Redaktion zugegangen am 3. August 1906.)

Die bis jetzt über den Abbau der Peptide im tierischen Organismus ausgeführten Untersuchungen¹⁾ sind fast ausschließlich am Hunde vorgenommen worden. Es hat sich gezeigt, daß die verwendeten Peptide mit Ausnahme vielleicht des Leucyl-leucins offenbar in analoger Weise abgebaut werden, wie die Aminosäuren, d. h. der Stickstoff der zugeführten Produkte erscheint in Form von Harnstoff im Urin. Nun verwendeten wir in einem Teil der Fälle racemische Peptide. Es war zu erwarten, daß deren Abbau zunächst asymmetrisch erfolgt. Eine Stütze erhält diese Annahme durch den Nachweis, daß Organextrakte und -preßsäfte ganz analog dem Pankreassaft aus racemischen Peptiden nur diejenigen Aminosäuren abspalten, welche den in der Natur vorkommenden entsprechen.²⁾ Aus dl-Leucyl-glycin wird l-Leucin frei. Im Organismus des Hundes werden auch die nicht in den Proteinen vorkommenden optisch aktiven Aminosäuren verbrannt, wie der Umstand zeigt, daß racemisches Leucin und Alanin usw., wenn diese Aminosäuren in nicht zu großen Mengen zugeführt werden, vollständig abgebaut werden, und ebenso lassen sich nach Verfütterung von racemischen Peptiden

¹⁾ Vergl. die Literatur in Emil Abderhalden, Lehrbuch der physiol. Chemie in 30 Vorlesungen, S. 203, Urban und Schwarzenberg, Berlin und Wien 1906.

²⁾ Vergl. Emil Abderhalden und Yutaka Teruuchi, Das Verhalten einiger Peptide gegen Organextrakte, Diese Zeitschrift, Bd. XLVII, S. 466, 1906.

keine Aminosäuren und keine Peptide im Harn auffinden. Der Kaninchenorganismus verhält sich offenbar, wie aus den Untersuchungen von Wohlgemuth,¹⁾ die wir auf Grund eigener Beobachtungen bestätigen können, hervorgeht, wenigstens quantitativ anders, indem er bei Zufuhr von größeren Mengen von dl-Leucin z. B., im Urin größere Mengen d-Leucin ausscheidet, d. h. es wird nur die eine optische Komponente und zwar diejenige, welche der in der Natur vorkommenden entspricht, vollständig verbrannt. Es fragt sich, ob hier eine ganz allgemeine Erscheinung vorliegt oder aber, ob, wie schon angedeutet, die Verbrennung racemischer Aminosäuren nur dann eine unvollständige ist, wenn ihre Zufuhr eine verhältnismäßig große ist. Dies ist in der Tat der Fall, denn wir konnten bei unserem Versuchstier, einem kräftigen, männlichen Kaninchen, erst dann d-Leucin im Urin nachweisen, wenn ihm per os 6 g dl-Leucin verabreicht worden waren. Man kann vielleicht auch hier von einer Assimilationsgrenze sprechen, obwohl wir es für angemessener halten, gerade für den Eiweißstoffwechsel mit dieser Bezeichnung vorsichtig zu sein, weil wir einstweilen in keinem Falle mit Sicherheit entscheiden können, welcher Anteil des Harnstickstoffs wirklich assimiliertem und wieder abgebautem Eiweiß entspricht, und welcher Teil Produkten zukommt, die im Eiweißstoffwechsel der Zellen nie eine Rolle gespielt haben.²⁾ Immerhin dürfte es in Zukunft nicht ohne Wert sein, namentlich unter pathologischen Verhältnissen die Grenze festzustellen, bis zu welcher z. B. racemische Aminosäuren noch verbrannt werden. Wir haben mit derartigen Untersuchungen eine neue Methode zur Prüfung der Funktionstüchtigkeit des Organismus vor uns, sobald durch eine größere Reihe von Versuchen diese Verhältnisse beim normalen Individuum aufgeklärt sind.

¹⁾ J. Wohlgemuth, Über das Verhalten stereoisomerer Substanzen im tierischen Organismus. Die inaktiven Aminosäuren. Berichte der Deutschen chem. Gesellsch., Jg. XXXVIII, S. 2064, 1905.

²⁾ Vergl. Emil Abderhalden, Zur Frage des Eiweißbedarfes, Zentralbl. f. d. gesamte Physiologie und Pathologie des Stoffwechsels, N. F., Jg. I, 1906, und Lehrbuch f. physiol. Chemie, 1. c. S. 241 ff. und S. 681 ff.

Im vorliegenden Fall interessierte uns die Frage, ob im Kaninchenorganismus per os und subkutan eingeführte racemische Peptide vollständig abgebaut werden oder nicht. Wir haben bis jetzt dl-Leucyl-glycin und dl-Leucyl-glycyl-glycin untersucht. Der Gang der Untersuchung war kurz folgender. Der Harn des Kaninchens wurde nach der Einführung des betreffenden Produkts durch mehrere Tage hindurch gesammelt, dann verdünnt und mit Bleiacetat gefällt. Das gelöste Blei entfernten wir aus dem Filtrat mit Schwefelwasserstoff und engten die nunmehr nur noch schwach gelb gefärbte Lösung unter vermindertem Druck bis zur Trockene ein. Der Rückstand wurde mit Alkohol und gasförmiger Salzsäure verestert. Dieser Prozeß wurde wiederholt und von den ungelöst gebliebenen Salzen abfiltriert. Zum Schluß wurde die alkoholische Lösung der Esterchlorhydrate ganz zur Trockene verdampft, der Rückstand in Äthylalkohol gelöst, und diese Lösung auf ein bestimmtes Volumen gebracht. In einem aliquoten Teil bestimmten wir die Salzsäure und setzten dann die Ester mit der berechneten Menge Natriumäthylat in Freiheit. Nach der Entfernung des ausgeschiedenen Kochsalzes wurde die alkoholische Lösung unter vermindertem Druck bis 100° des Wasserbades destilliert. Das Destillat wurde mit wässriger Salzsäure durchgeschüttelt und dann eingedampft. Den Destillationsrückstand nahmen wir in Alkohol auf, nachdem vorher durch Ausäthern die letzten Spuren von Aminosäureestern entfernt worden waren, und leiteten gasförmiges Ammoniak ein, um eventuell vorhandenen Peptidester in das Anhydrid überzuführen. Der Rückstand des verdampften ätherischen Auszuges wurde zu dem bis 100° übergegangenen Destillat hinzugefügt und mit ihm verdampft.

Im ersten Versuch erhielt das Kaninchen 4,5 g d-l-Leucyl-glycin in 200 ccm Wasser gelöst subkutan. Der Harn wurde zunächst in den ersten 80 Stunden gesammelt und für sich verarbeitet. Der Urin der nächsten 7 Tage ergab weder Glykokoll, noch Leucin noch Anhydrid. Glykokoll war im ersten Urin ebenfalls nicht nachweisbar, dagegen Leucyl-glycinanhydrid. An Rohprodukt gewannen wir 1,5 g. Es wurde durch Um-

krystallisieren aus verdünntem Alkohol gereinigt. An ziemlich reinem Produkt, das gegen 235° (unkorr.) sich zersetzte, erhielten wir etwa 0,5 g. Es krystallisierte aus Wasser in Prismen. Aus der Mutterlauge der ersten Krystallisation ließ sich noch eine kleine Menge von Anhydrid gewinnen. Die weiteren Krystallisationen erwiesen sich als Harnstoff. Das erhaltene Anhydrid wurde auf sein optisches Verhalten geprüft. Es erwies sich als gänzlich inaktiv. Es handelt sich somit um dl-Leucyl-glycin, das dem Abbau ganz entgangen war. Wir können aus diesem Befunde schließen, daß in dem Kaninchenorganismus eingeführtes dl-Leucyl-glycin vollständig verbrannt wird, sobald seine Spaltung stattgefunden hat.

Bei einem zweiten Versuch verwandten wir 4 g dl-Leucyl-glycin. Auch hier wurde es subkutan zugeführt. In dem in den nächsten 4 Tagen gesammelten Harn ließen sich keine Spaltungsprodukte des dl-Leucyl-glycins nachweisen und ebenso war kein unverändertes Peptid vorhanden.

In einem dritten Versuche hatten wir 5 g dl-Leucyl-glycin eingespritzt. Hier gewannen wir aus dem Harn der nächsten 4 Tage 0,2 g Glykokollesterchlorhydrat und 0,7 g ganz reines Leucyl-glycinanhydrid. Es war optisch inaktiv. Leucin wurde nicht aufgefunden.

Endlich gaben wir einem Kaninchen 5,5 g dl-Leucyl-glycin per os und zwar in Brot eingeknetet. Das Versuchstier nahm die ganze Masse freiwillig auf. Im Harn der nächsten 5 Tage waren keine Produkte auffindbar, welche in direkter Beziehung zum dl-Leucyl-glycin standen. Es war unzweifelhaft das gesamte dl-Leucyl-glycin verbrannt worden.

Aus all diesen Versuchen geht hervor, daß der Kaninchenorganismus das verabreichte dl-Leucyl-glycin offenbar ebenso gut verwertet, wie der Hund, nur scheint letzterer größere Mengen abzubauen zu können, als das Kaninchen, bei dem allem Anschein nach die Grenze bei etwa 4—5 g des Peptids erreicht ist.

Es interessierte uns ferner, zu erfahren, wie das Kaninchen sich gegen ein Tripeptid und zwar gegen dl-Leucyl-glycyl-glycin verhält. Es wurden einem Kaninchen 5 g dieses Tripeptids in 50 ccm Wasser gelöst subkutan einverleibt. Der Harn

der nächsten $4\frac{1}{2}$ Tage ergab eine geringe Menge von Glykokoll-esterchlorhydrat vom Schmelzpunkt 143° (korr.), dagegen ließen sich weder Leucin, noch unverändertes Tripeptid, noch Leucyl-glycin und Glycyl-glycin nachweisen. Offenbar war das Tripeptid ganz glatt verbrannt worden.

Wir beabsichtigen, um noch klarere Verhältnisse zu schaffen, diese Versuche mit optisch aktiven Peptiden fortzusetzen, und zwar sowohl mit denjenigen optisch aktiven Kombinationen, die den in der Natur vorkommenden entsprechen, als mit deren Antipoden. Selbstverständlich werden wir die entsprechenden Versuche auch mit Organextrakten durchführen.

