

Analyse eines aus Hauttalg gewonnenen 2,4-Dinitro-phenylhydrazons des Acroleins:

3,303 mg Substanz gaben 0,695 cm³ N₂ (19°, 739 mm).

C₉H₅O₄N₄ Ber. N 23,73 Gef. N 23,92%

Äquivalentgewichtsbestimmungen der Fettsäuren.

Es wurde eine modifizierte Ausführung der *F. Pregl*'schen Mikromethode¹⁾ angewendet: 0,02-n. NaOH und HCl in 70-proz. Alkohol; Titration heiss von sauer nach alkalisch; α -Naphtholphtalein als Indikator. Zur Vertreibung des Kohlendioxyds wird zuerst ein kleiner Überschuss an Lauge zugegeben, dann 0,2 cm³ Säure und hernach nach Auskochen genau titriert bis zur Blaufärbung. Einwagen 5—15 mg Fettsäure. Benzoesäure als Ursubstantz.

Zürich, Dermatologische Universitätsklinik,
Direktor Prof. *G. Miescher*.

117. Zur Kenntnis des Abbaues der Aminosäuren im tierischen Organismus.

10. Über das Verhalten von *d*- und *l*-Histidin im Organismus der Ratte

von **Karl Schmid**.

(15. V. 46.)

In der 7. Mitteilung²⁾ dieser Reihe wurde über Belastungsversuche mit *l*- und *d,l*-Asparaginsäure am Kaninchen berichtet, die so ausgeführt wurden, dass den gleichen Versuchstieren in bestimmten Zeiträumen wiederholt diese Aminosäure appliziert wurde. Diese Versuche ergaben, dass bei der Verabreichung der natürlichen Form der Asparaginsäure nach jeder Injektion eine konstante Menge ausgeschieden wird, dass hingegen bei wiederholter Injektion der Racemform nach der 3. bis 5. Injektion ein Maximalwert der Ausscheidung erreicht wird, der bei fortgesetzten Injektionen wieder absinkt. Nach der 1. und nach der 6. Injektion des Racemates wird reine *d*-Asparaginsäure ausgeschieden, während bei den dazwischenliegenden Injektionen teilweise racemisierte Aminosäure aus dem Harn isoliert werden kann.

In Fortsetzung dieser Untersuchungen wurde nun das Verhalten der Ratte nach Verabreichung der verschiedenen optischen Formen des Histidins untersucht. *S. Edlbacher* hat gemeinsam mit *O. Wiss* in der 6. Mitteilung dieser Reihe³⁾ über das Verhalten der *d*-Aminosäure-oxydase berichtet und gezeigt, dass speziell das Histidin sich als besonders wirksamer Effektor dieses Enzyms erweist. Es war deshalb von Interesse, durch systematische Belastungsversuche das

¹⁾ *F. Pregl* und *H. Roth*, Die quantitative organische Mikroanalyse, Berlin 1935.

²⁾ *Helv.* **28**, 1079 (1945). ³⁾ *Helv.* **28**, 797 (1945).

Verhalten des Histidins im Gesamtorganismus kennenzulernen. Wie schon in der 7. Mitteilung erwähnt wurde, haben die von *Edlbacher, Baur* und *Stachelin*¹⁾ durchgeführten Belastungsversuche am Meer-schweinchen ergeben, dass fast die ganze Menge des injizierten *d*-Histidins bei dieser Tierart im Harn wieder erscheint. In neueren Untersuchungen konnten unabhängig von einander *H. Baur*²⁾ und *Albanese*³⁾ zeigen, dass auch der Mensch das verabreichte *d*-Histidin quantitativ wieder ausscheidet. Im Gegensatz dazu fanden *Holtz* und *Credner*⁴⁾, dass bei der Ratte ein beträchtlicher Teil des verabreichten *d*-Histidins vom Organismus zurückgehalten wird. Dass ganz allgemein *d*-Aminosäuren biologisch wirksam sind, konnten schon *Abderhalden* und Mitarbeiter⁵⁾ und in neueren Untersuchungen auch *Howe, Unna, Richards* und *Seeler*⁶⁾ feststellen. In den hier mitgeteilten Untersuchungen wird nun zuerst über Versuche berichtet, die dieses Ergebnis von *Holtz* und *Credner* an der Ratte bestätigen. Tatsächlich scheidet die Ratte auch bei wiederholter Injektion von *d*-Histidin nur ca. 60% desselben aus. Dass diese ausgeschiedene Aminosäure wirklich Histidin ist, konnte dadurch bewiesen werden, dass die Bestimmung desselben im Harn nicht nur mit der in unserem Institut bisher gehandhabten Diazoreaktion (mit Monochloranilin) durchgeführt wurde, sondern dass die speziell für Histidin typische Reaktion nach *R. Kapeller-Adler*⁷⁾ zur Anwendung gelangte. Allerdings musste zuerst die *Kapeller-Adler*'sche Methode in entsprechender Weise modifiziert werden⁸⁾. Wie *S. Edlbacher* und *H. von Bidder*⁹⁾ zeigen konnten, scheiden auch Hund und Kaninchen nach Verabreichung grösserer Mengen von *l*-Histidin im Harn immer nur Histidin und niemals Urocaninsäure (Imidazol-acrylsäure) aus. Die hier an der Ratte ausgeführten Versuche mit *d*-Histidin stehen also in Übereinstimmung mit diesen Untersuchungen. Sie stehen aber in dieser Hinsicht im Gegensatz zu Versuchen, über die *Kotake* und Mitarbeiter¹⁰⁾ berichten, welche angaben, dass nach Verabreichung von Histidin im Harn Urocaninsäure erscheint. Es sei ausdrücklich hervorgehoben, dass es in unserem Institut niemals gelungen ist, diese Verbindung als Zwischenprodukt des Histidin-Stoffwechsels nachzuweisen.

Bei der Verabreichung von *l*-Histidin an männliche Ratten ergab sich, dass bei Injektion von 50 mg pro 100 g Körpergewicht und 100 mg pro 100 g Körpergewicht auch bei wiederholter Injektion

1) Z. physiol. Ch. **270**, 165 (1940).

2) Helv. physiol. pharmacol. acta **3**, C 51 (1945).

3) J. Biol. Chem. **160**, 443 (1945). 4) Z. physiol. Ch. **280**, 1 (1944).

5) Z. physiol. Ch. **232**, 81 (1935); Z. Fermentf. **15**, 374 (1937).

6) J. Biol. Chem. **162**, 395 (1946).

7) Bioch. Z. **264**, 131 (1933) und **270**, 206 (1934).

8) Helv. **29**, 226 (1946). 9) Z. physiol. Ch. **273**, 163 (1942).

10) Z. physiol. Ch. **270**, 38 (1941) und Mitt. med. Ges. Osaka **38**, I (1939).

immer nur ca. 4% der Aminosäure im Harn ausgeschieden werden. Nach Applikation der gleichen Menge *d*-Histidin lassen sich jedoch ca. 40% dieser Aminosäure im Harn wieder finden. Bei Applikation von racemischem Histidin wurden ähnliche Verhältnisse beobachtet wie bei der Verabreichung von racemischer Asparaginsäure an Kaninchen, indem die Menge des ausgeschiedenen Histidins nach der 3. bis 4. Injektion ein Maximum zeigt. Da die ausgeschiedene Histidmenge zu klein war, um die Aminosäure zu isolieren, konnte das Verhältnis zwischen den beiden Antipoden bei diesen Versuchen nicht bestimmt werden. Die allgemeine Form der Kurven zeigt aber, dass hier die Verhältnisse ganz ähnlich liegen müssen, wie das bei der Verabreichung von *d,l*-Asparaginsäure an Kaninchen in der 7. Mitteilung beschrieben wurde. Bei niedrigen Dosen von 50 und 100 mg wurde auch die Histidase-Aktivität der Leber untersucht. Es liess sich dabei aber noch kein Unterschied gegenüber der Norm finden. Deshalb wird auf die Wiedergabe der entsprechenden Protokolle verzichtet. Gleichzeitig mit diesen Belastungsversuchen wurde der Gehalt des Harnes der Tiere in bezug auf die folgenden Stickstoff-Fractionen untersucht: Gesamtstickstoff, Harnstoffstickstoff, Ammoniakstickstoff, Aminosäurestickstoff und Histidinstickstoff. Wie im experimentellen Teil gezeigt werden wird, verursacht die Injektion von *l*-, *d*- und *d,l*-Histidin jedesmal zusätzlich zur Histidinausscheidung eine Mehrausscheidung von Stickstoff im Harn. Es ist dieses Resultat nicht anders zu deuten als so, dass durch die parenterale Verabreichung von *l*-, *d*- oder *d,l*-Histidin eine Aktivierung des Eiweißstoffwechsels stattfindet, die zu einer Mehrausscheidung von Stickstoff führt. Da die Injektion von Kochsalzlösung gleicher Konzentration oder äquimolarer Harnstofflösung unter gleichen Bedingungen keine Veränderung der Stickstoffausscheidung erzeugt, ist diese sicher durch eine spezifische Stoffwechselwirkung des Histidins bedingt. Zu einem sehr ähnlichen Resultat gelangt auch *Gremels*¹⁾, indem er nach Applikation von Histidin eine Erhöhung des Sauerstoffverbrauches und des Blutzuckers beobachtete. Es lässt sich hier nun eine Beziehung zu Versuchen feststellen, die *S. Edlbacher* gemeinsam mit *O. Wiss* in der 6. Mitteilung dieser Reihe (l. c.) veröffentlicht hat, die ergaben, dass speziell das Histidin der wirksamste Aktivator der *d*-Aminosäure-oxydase ist. Die in vitro durchgeführten enzymatischen Aktivierungsversuche finden also durch diese Belastungsversuche ihre Bestätigung in bezug auf den Gesamtorganismus.

Endlich wurde die Verteilung nach Injektion von *d*- und *l*-Histidin auf die verschiedenen Organe untersucht. Diese Untersuchungen führten zu dem Ergebnis, dass Niere, Leber, Muskel, Lunge und Serum nach einer Stunde den höchsten Gehalt an *l*-Histidin auf-

¹⁾ Arch. exp. Path. Pharmacol. **203**, 225 (1944).

weisen, und dass dann ein schnelles Absinken stattfindet, so dass nach 5 Stunden schon fast alle extrahierbare Aminosäure wieder verschwunden ist. Bei der Verabreichung von *d*-Histidin ist ein etwas langsames Ansteigen und auch ein langsames Verschwinden der freien Aminosäure in den Organen festzustellen. Diese Beobachtung führt also zu ähnlichen Resultaten, wie die Untersuchungen von *Rattner, Schönheimer* und *Rittenberg*¹⁾, welche in Fütterungsversuchen an Ratten, denen *d*-Leucin mit D in der Kohlenstoffkette und N¹⁵ in der Aminogruppe verabreicht wurde, zeigen konnten, dass nun im Körpereiwiss auch andere Aminosäuren (Glykokoll, Tyrosin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Arginin) mit isotopem Stickstoff enthalten sind. Der eingeführte isotope Stickstoff verteilte sich auf alle untersuchten Organe (Leber, Muskel, Haut, Milz, Plasma, Testes) und sein Anteil war grösser, wenn er in Form des natürlichen Leucins verabreicht wurde. Es zeigt sich demnach eine gewisse Übereinstimmung mit den vorliegenden Untersuchungen, indem natürliches Histidin von den Geweben in intensiverer Weise aufgenommen wird als *d*-Histidin. Es steht ausserdem in Übereinstimmung mit den oben erwähnten Belastungsversuchen, welche deutlich ergaben, dass die natürliche Modifikation in weit grösserer Masse zum Abbau gelangt als der unnatürliche Antipode.

Experimenteller Teil.

1. Versuchstiere.

Um ein möglichst homogenes Tiermaterial zu benützen, wurden nur Ratten der Zucht unseres Institutes verwendet, und zwar gelangten Tiere zur Anwendung, welche 8 bis 12 Monate alt waren und ein Gewicht von 150 bis 300 g hatten.

2. Applikation der Aminosäure.

Die Tiere erhielten das Histidin in Form einer 10-proz. neutralisierten Lösung subkutan unter die rasierte Rückenhaut injiziert. Alle Angaben über die Menge der Aminosäure beziehen sich auf Histidin-monohydrochlorid (Mol.Gew. 209,5). Als Dosis wird immer die Anzahl von mg Histidin pro 100 g Körpergewicht bezeichnet, wie dies bei allen früheren Versuchen schon durchgeführt wurde.

Während der Versuchszeit wurden die Tiere in Stoffwechselkäfigen gehalten und der Harn unter Toluol gesammelt. Aus wiederholten Versuchen ergab sich, dass nach 24 Stunden kein Histidin mehr ausgeschieden wurde. Deshalb gelangte immer nur der innerhalb 24 Stunden ausgeschiedene Harn zur Untersuchung. 24 Stunden nach der 1. Injektion kamen die Tiere in andere Käfige und wurden jetzt während einer weiteren 24-Stunden-Periode gefüttert. Das Futter bestand zum grössten Teil aus Kartoffeln, gekocht mit Mehl, Fett, Pferdefleisch, Luzernemehl, Salzen. Daneben erhielten die Tiere stets Wasser. 48 Stunden nach jeder Injektion erfolgte die nächste. In jeder Versuchsserie wurden noch nie belastete Tiere verwendet.

3. Bestimmung des Histidins im Harn.

Sie erfolgte einerseits nach der bekannten Methode der Kuppelung mit diazotiertem *p*-Chloranilin und Extraktion des gebildeten Farbstoffs mit Butylalkohol²⁾.

¹⁾ J. Biol. Chem. **134**, 654 (1940).

²⁾ Z. physiol. Ch. **270**, 158 (1941).

Da diese Diazoreaktion aber nicht für Histidin charakteristisch ist, sondern auch Urocaninsäure und ähnliche Verbindungen mit dem Reagenz rote Farbstoffe geben, wurde auch die für Histidin spezifische, modifizierte Bestimmung nach *Kapeller-Adler* (l. c.) angewendet.

4. Bestimmung der verschiedenen Stickstoff-Fractionen im Harn.

Der Gesamtstickstoff wurde im Mikro-*Kjeldahl*, das präformierte Ammoniak nach der sogenannten *Soda-Folin*-Methode und der Harnstoff nach der Ureasemethode bestimmt. Der Aminostickstoff wurde nach *Folin* mittels der Naphthochinonsulfosäure-Methode ermittelt.

5. Ausscheidung des Histidins nach wiederholter Injektion dieser Aminosäure.

In Vorversuchen wurden Ratten in bezug auf eine 10-proz. neutrale Histidinlösung mit isotonischer Kochsalz- oder äquimolarer Harnstofflösung belastet. Es zeigte sich, dass in keinem Fall eine Imidazolurie eintritt.

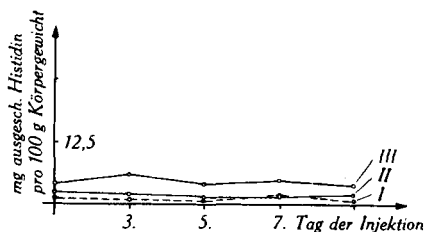


Fig. 1.

Belastung mit *l*-Histidin.

Kurve I	Dosis 50	4 ♂ Ratten (Nr. 21—24)
Kurve II	Dosis 100	5 ♂ Ratten (Nr. 25—29)
Kurve III	Dosis 100	5 ♀ Ratten (Nr. 31—35)

Belastung mit *l*-Histidin.

Kurve I und II in Fig. 1 zeigen, dass männliche Ratten auch nach mehrmaliger Injektion von *l*-Histidin stets eine konstante Menge, und zwar 4% der verabreichten Aminosäure, wieder ausscheiden. Weibliche Ratten weisen mit dem Unterschied, dass sie 9% wieder sezernieren, dasselbe Verhalten auf. Unter gleichen Bedingungen verwertet also der männliche Organismus etwas mehr *l*-Histidin als der weibliche. Es kann aber an Hand dieser Resultate noch nicht entschieden werden, ob der Grund für die ungleichen Mengen der ausgeschiedenen Aminosäure in verschiedenem Abbau durch den Organismus oder in verschiedener Ausscheidung durch die Nieren liegt.

Belastung mit *d*-Histidin.

Der hervortretendste Unterschied gegenüber der Versuchsserie, die in Fig. 1 wiedergegeben ist, ist die Tatsache, dass Ratten nach Applikation von *d*-Histidin unter sonst gleichen Bedingungen viel mehr der verabreichten Aminosäure wieder ausscheiden. Jedoch verhält sich die Ratte grundsätzlich anders als das Meerschweinchen, bei welchem fast das gesamte injizierte *d*-Histidin sich im Harn wieder finden lässt. Sie vermag immer (in 155 Einzelversuchen bestätigt) eine bestimmte Menge dieser applizierten *d*-Aminosäure zu verwerten, indem sie durchschnittlich nur noch 60% ausscheidet. Die Menge der ausgeschiedenen Aminosäure nimmt zudem mit steigender Dosis oder mit wachsender Zahl der Injektionen zu. Auch erfährt diese Grösse nach wiederholter Injektion der Dosis 100 deutliche Schwankungen, die schon bei der niederen Dosis 50 zu erkennen sind.

An dieser Stelle sei hervorgehoben, dass sich die mit *d*-Histidin belasteten Ratten äusserlich gleich verhielten wie diejenigen, welche *l*-Histidin oder isotonische Kochsalzlösung injiziert erhielten (Fig. 2).

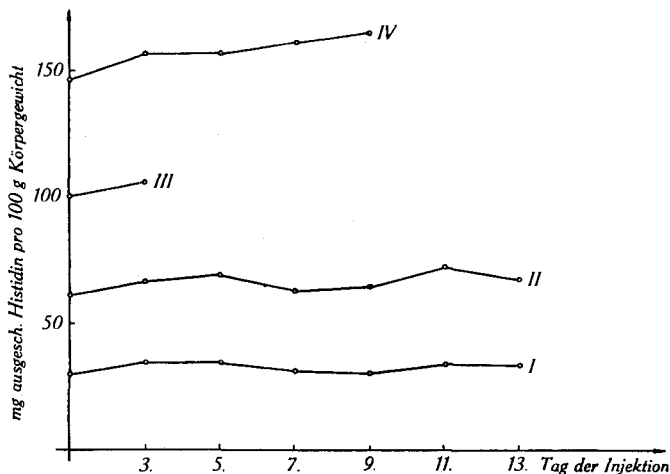


Fig. 2.

Belastung mit *d*-Histidin.

Kurve I	Dosis 50	4 ♂ Ratten (Nr. 37—40)
Kurve II	Dosis 100	9 ♂ Ratten (Nr. 41—45, 47—50)
Kurve III	Dosis 150	5 ♀ Ratten (Nr. 77—81)
Kurve IV	Dosis 200	5 ♀ Ratten (Nr. 62—66)

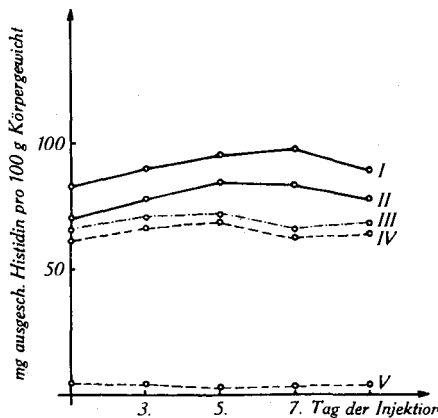


Fig. 3.

Belastung mit *d,l*-Histidin.

Kurve I	200 <i>d,l</i> -Histidin	5 ♀ Ratten (Nr. 57—61)
Kurve II	200 <i>d,l</i> -Histidin	7 ♂ Ratten (Nr. 5—7, 53—56)
Kurve III	Summe von Kurve IV + V, d. h. 100 <i>l</i> - + 100 <i>d</i> -Histidin	
Kurve IV	100 <i>d</i> -Histidin	9 ♂ Ratten (Nr. 41—45, 47—50)
Kurve V	100 <i>l</i> -Histidin	5 ♂ Ratten (Nr. 25—29)

Belastung mit *d, l*-Histidin.

Werden männliche oder weibliche Ratten mit 200 mg *d, l*-Histidin pro 100 g Körpergewicht belastet, so lassen sich die Mengen der im Harn wiedergefundenen Imidazolverbindung durch zwei fast parallele Kurven (Kurve I und II in Fig. 3) darstellen. Wie schon bei den Versuchen mit *l*-Histidin gezeigt wurde, weisen auch hier wieder die weiblichen Tiere eine grössere Ausscheidung auf. Aus dem Verlauf der beiden Kurven (I und II in Fig. 3) kann aber mit grösster Wahrscheinlichkeit angenommen werden, dass dieses verschiedene Verhalten in verschiedenen aktiven Enzymsystemen der beiden Geschlechter begründet ist. Ein ähnlicher Befund wurde schon von *S. Edlbacher*¹⁾ bei der Spaltung des Arginins durch die Arginase festgestellt; er beobachtete bei diesem Enzym immer dann eine intensivere Aktivität, wenn dieses aus männlichen Tieren präpariert war. Nach Verabreichung des racemischen Histidins erreicht die Menge dieser ausgeschiedenen Aminosäure nach der 3. oder 4. Injektion ein Maximum und nach der 5. Injektion ist sie auf einen Wert gesunken, der noch etwas grösser ist als derjenige nach der ersten Applikation. In bezug auf die Verwertbarkeit dieser Aminosäure wird dieser Befund am einfachsten durch eine vorübergehende Störung und eine nachfolgende Angewöhnung im Abbau dieses Stoffes erklärt werden.

6. Stickstoff-Fractionen im 24-Stunden-Harn
nach subkutaner Injektion von *l*-, *d, l*- und *d*-Histidin.

Die Ratten Nr. 31 bis 35 und 57 bis 61 wurden gleichzeitig in einem Vorversuch fünfmal jeden zweiten Tag mit dem gleichen Volumen isotonischer Kochsalzlösung belastet, wie sie im Hauptversuch Histidinlösung injiziert erhielten. Die Durchschnittswerte (jede Zahl ist das Mittel von 25 Einzelbestimmungen) der Stickstoffverbindungen beider Tierserien sind konstant und in Fig. 4 durch die weissen Stäbe dargestellt. Nach einer siebentägigen Karenzzeit wurden diesen Ratten *l*- resp. *d, l*-Histidin verabreicht (schwarze Stäbe). Der entsprechende Belastungsversuch mit *d*-Histidin wurde später ausgeführt. Als Norm wurden die Werte eines Kontrolltieres verwendet. Da jedoch alle Tiere dasselbe Futter erhielten, ist auch ein Vergleich zwischen den ersten beiden und der dritten Versuchsserie zulässig.

Fig. 4 zeigt vorerst das Folgende: Die Differenz zwischen injiziertem und ausgeschiedenem Histidin stellt diejenige Menge dar, die vom Organismus nicht mehr als Imidazolverbindung ausgeschieden wurde. Sie ist nach Verabreichung von 200 mg *d, l*-Histidin pro 100 g Körpergewicht kleiner als die Summe der beiden Komponenten, wenn diese einzeln appliziert werden. Der starke Anstieg des Aminostickstoffs ist im wesentlichen durch die ausgeschiedene Aminosäure bedingt. Die in Fig. 4 als „undefinierter Stickstoff“ bezeichnete Fraktion wurde als Differenz zwischen Gesamtstickstoff und der Summe der einzelnen bestimmten Komponenten gefunden. Er enthält Kreatin, Kreatinin, Harnsäure, Allantoin usw. Die schwarzen Stäbe des „undefinierten Stickstoffs“ enthalten zudem noch $\frac{2}{3}$ des Stickstoffes des ausgeschiedenen Histidins, da in den Stickstofffraktionen, die zur Berechnung des „undefinierten Stickstoffes“ dienten, nur der Aminostickstoff des Histidinstickstoffes eingeschlossen ist. Wie zu erwarten war, steigt nach Applikation von *l*-Histidin der Harnstoffstickstoff stark an; nach Verabreichung der racemischen Form dieser Aminosäure wird merkwürdigerweise vorwiegend der sogenannte „undefinierte Stickstoff“ vermehrt, währenddem sich die Mehrausscheidung nach Injektion von *d*-Histidin auf alle Fraktionen verteilt. Wird nun der Stickstoff des injizierten Histidins zu dem im Harn ausgeschiedenen Gesamtstickstoff der Vorperiode der Ratten, die später mit *l*- oder *d*-Histidin belastet wurden, resp. des erwähnten Kontrolltieres, zugezählt und die so erhaltene Grösse mit dem total ausgeschiedenen Stickstoff der Hauptperiode verglichen, so bleibt als Differenz der als „zusätzlich ausgeschiedene Stickstoff“ bezeichnete Stickstoffwert. Einerlei ob Ratten mit der natürlichen oder unnatürlichen Form oder mit dem Racemat des Histidins belastet werden, immer führt die Verabreichung dieser Aminosäure unter den gewählten Bedingungen zu

¹⁾ Z. physiol. Ch. 148, 273 (1925).

einer vermehrten Stickstoffausscheidung. Es sei hier besonders hervorgehoben, dass neben der natürlichen auch die unnatürliche Form des Histidins den Eiweißstoffwechsel der Ratte zu steigern vermag. Diese veränderte Stickstoffbilanz kann sicher als Ausdruck der spezifisch-dynamischen Wirksamkeit dieser Aminosäure gewertet werden.

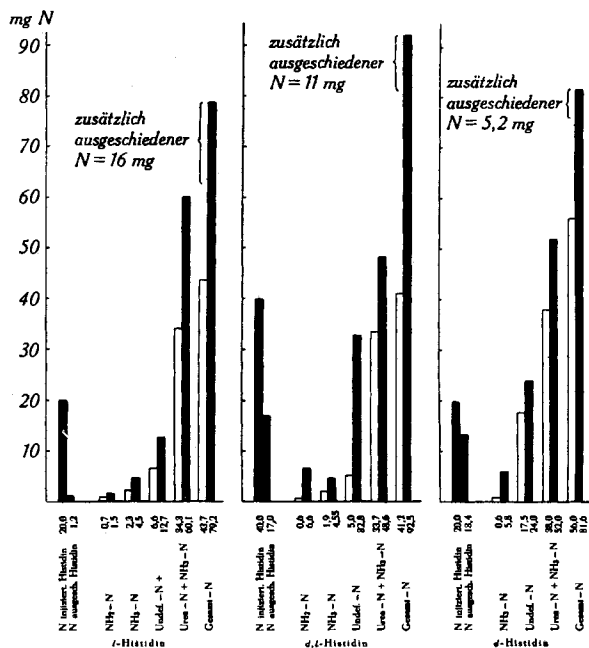


Fig. 4.

N-Bilanz im 24-Stunden-Harn nach Histidinbelastung.

	Dosis	Ratten	mittleres Gewicht
l-Histidin	100	♀ Nr. 31—35	181 g
d,l-Histidin	200	♀ Nr. 57—61	202 g
Weisse Stäbe: Vorversuch mit isoton. NaCl-Lösung			
Schwarze Stäbe: Hauptversuch			
d-Histidin	100	♂ Nr. 41—45	237 g schwarze Stäbe
	Kontrolltier	♂ Nr. 46	288 g weisse Stäbe

7. Belastung mit variierten Dosen Histidin.

Verhalten der Tiere: Die Ratten, welchen die Dosis 600 oder 700 appliziert wurde, überlebten alle. Ihr 24-Stunden-Harn wies stets auf eine schwache Hämaturie hin. Anders reagierten die Tiere nach Injektion der noch höheren Dosen. Hier traten Störungen des Gleichgewichtssinnes, äusserst heftige Krämpfe, unregelmässige Atmung ein, und die Hinterextremitäten schienen gelähmt zu sein. Da aber auch Ratten, die mit dem gleichen Volumen isotonischer Kochsalzlösung belastet wurden, dieselben Symptome zeigten, werden diese Erscheinungen durch das grosse Volumen der injizierten, unphysiologischen Lösung hervorgerufen. In Fig. 5 wurden daher die entsprechenden Kurven-teile weggelassen.

Gehalt des Histidins im 24-Stunden-Harn:

Er wurde nach beiden in unserem Institut gebräuchlichen Methoden ermittelt und in Tabelle 1 zusammengestellt. Die Werte zeigen, dass Ratten in keinem der unter-

suchten Fälle Urocaninsäure, sondern immer nur Histidin ausscheiden. Bei diesen erhöhten Dosen wurde auch der Harn, welcher von der 24. bis zur 72. Stunde nach der Injektion ausgeschieden wurde, in gleicher Weise untersucht. Dabei zeigte sich, dass bei Applikation der grössern Dosen als 400 in dieser Zeit 1—5% derjenigen Menge Histidin ausgeschieden wird, die in den ersten 24 Stunden schon sezerniert wurde.

Tabelle 1.
Histidingehalt im 24-Stunden-Harn.

Dosis	Kuppelung mit p-Chlor- anilin	l-Histidin		
		Verdünnung des Harns	Bromierung	Verdünnung
300	119	1:2500	126	1:100
	105		105	
450	285	1:5000	285	1:250
	304		294	
500	285	1:5000	264	1:250
	263		245	
d-Histidin				
350	513	3:20000	566	3:2000
	524		594	
400	740	1:10000	789	1:2000
450	642	1:10000	640	1:10000
	669		700	
500	860	1:10000	832	1:10000
	793		832	
550	616	1:10000	649	1:10000
	718		697	
600	956	1:10000	1009	1:500
	1006		1035	
700	629	1:10000	650	1:500
	728		785	
800	919	1:10000	910	1:1000
	910		910	
900	1029	1:10000	1066	1:1000
	905		1066	
1000	910	1:20000	800	1:1000
	882		889	

Ausscheidung des Histidins in Abhängigkeit der injizierten Menge.

Da jeder Kurvenpunkt in Fig. 5 das Resultat nur zweier Ratten darstellt, ist auch die Streuung der einzelnen Punkte verständlich. Die mit „l-Histidin“ bezeichnete Kurve zeigt, dass die prozentuale Ausscheidung bis zur Dosis 300 sich vergrößert und dass bei noch höher gewählten Dosen die Ausscheidung bei ca. 30% konstant bleibt.

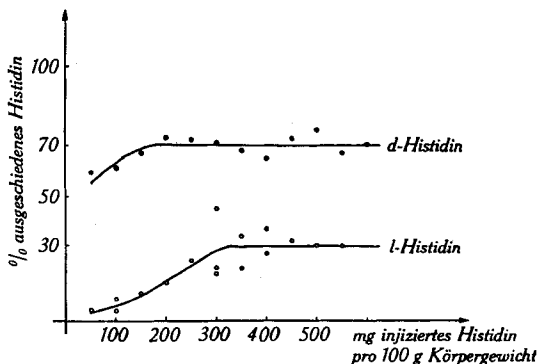


Fig. 5.

Belastung mit variierten Dosen Histidin.

Die absolute Menge dieser ausgeschiedenen Aminosäure ist also von der erwähnten Dosis ab so, dass die Differenz zwischen injiziertem und ausgeschiedenem Histidin konstant ansteigt. Demnach ist der Rattenorganismus in der Verwertung dieser Verbindung durchaus nicht beschränkt, sondern er kann sich vielmehr der angebotenen Menge anpassen. Noch deutlicher treten diese Verhältnisse nach Belastung mit *d*-Histidin hervor. In dieser Versuchsserie wird schon nach der Dosis 150 das charakteristische Gleichgewicht zwischen injiziertem und ausgeschiedenem Histidin erreicht, indem die Ratte unabhängig von der Dosis 70% der verabreichten Säure wieder sezerniert. Auch in bezug auf die Verwertbarkeit der unnatürlichen Form des Histidins ist also der Organismus der Ratte nicht begrenzt. Im weiteren wurden ausführliche Untersuchungen durchgeführt, in denen Ratten diese Aminosäure sowohl in 5- als auch in 10-proz. Lösung injiziert erhielten und welche zeigten, dass die Menge des ausgeschiedenen Histidins bei beiden Antipoden fast unabhängig von der Konzentration resp. Volumen der applizierten Lösung ist.

8. Verteilung des Histidins in verschiedenen Organen und Änderung des Gehaltes daran in Abhängigkeit der Zeit nach der Injektion.

Methode: Es erwies sich als vorteilhaft, stets zwei Ratten miteinander zu untersuchen. Nach Dekapitieren der Tiere wurde sofort Lunge, Leber, Niere und ein Teil der Oberschenkelmuskulatur entnommen. Zur Gewinnung des Serums wurde das Blut zwei Stunden im Eisschrank gekühlt. Die Leber wurde danach mit Quarzsand, Lunge, Niere und Muskulatur mit Seesand während 7—10 Minuten in einem Mörser zu einem homogenen Brei verrieben. Es wurde stets die doppelte Menge des Organgewichtes an Quarz- bzw. Seesand verwendet. Die erhaltenen Suspensionen wurden nun bezogen auf das Organgewicht mit der 5- oder 10fachen Menge siedenden Wassers versetzt und zentrifugiert. 5 oder 10 cm³ der überstehenden Flüssigkeit wurden bei 100° während 10 Minuten koaguliert, zentrifugiert, und zur vollständigen Extraktion der wasserlöslichen Imidazolverbindung wurde das Koagulat noch 5mal mit heissem Wasser behandelt. In den auf 25 cm³ aufgefüllten, vereinigten Extrakten wurde der Imidazolgehalt kolorimetrisch bestimmt.

Für diese Versuche wurden weibliche Ratten verwendet, welche 12 Stunden vor der Injektion gehungert hatten. Jeder Kurvenpunkt in Fig. 6 ist das Mittel aus den Werten von 2 oder 4 Tieren.

Zu den in Fig. 6 dargestellten Normalwerten sei das Folgende bemerkt: Der hohe Imidazolgehalt der Muskulatur ist im wesentlichen durch das Carnosin bedingt. Dass sich in Lunge und Leber Histidin vorfindet, hat *Ackermann*¹⁾ gezeigt. Wie aus Fig. 6 ersichtlich ist, steigt in den Zellen aller untersuchten Organe der Imidazolgehalt nach

¹⁾ Z. physiol. Ch. **257**, 151 und 153 (1938).

Injektion von *d*- oder *l*-Histidin sehr schnell an. Der durch die Applikation erzeugte zusätzliche Imidazolgehalt sinkt auch fast ebenso schnell wieder ab. Die Änderung dieses Gehaltes bezüglich der unnatürlichen Form dieser Aminosäure verläuft träger, denn der für diesen Antipoden geringere Maximalwert wird später erreicht, und die Abnahme dieses Gehaltes erfolgt langsamer als bei der natürlichen Komponente.

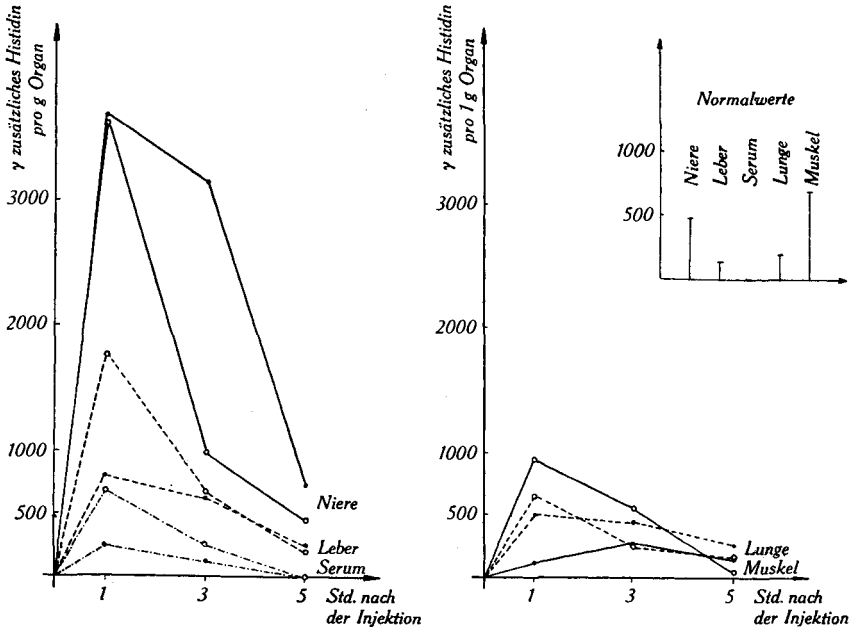


Fig. 6.

Änderung des zusätzlichen Imidazolgehaltes im wässrigen Extrakt verschiedener Organe nach subkutaner Injektion von 100 mg Histidin pro 100 g Körpergewicht.

Kurven mit ○ beziehen sich auf *l*-Histidin

Kurven mit ● beziehen sich auf *d*-Histidin

Das Resultat dieser Untersuchungen steht in Übereinstimmung mit dem Ergebnis der oben dargelegten Versuche, in welchen gezeigt wurde, dass *d*-Histidin immer, wenn auch in kleinerem Ausmass als die natürliche Form, von der Ratte verwertet werden kann.

Besprechung der Ergebnisse.

Aus den hier mitgeteilten Versuchen ergibt sich also, dass unter speziellen Bedingungen, welche experimentell jedesmal festgelegt werden müssen, der tierische Organismus bei parenteraler Verabreichung von Aminosäuren nicht nur deren *l*-Form, sondern auch deren *d*-Form teilweise verwerten kann. Dabei ist es charakteristisch, dass speziell das Histidin eine Mehrausscheidung von Stickstoff verursacht, die auf eine Aktivierung des Eiweißstoffwechsels durch diese Aminosäure zurückgeführt werden muss. Dies steht in Übereinstimmung mit den von *Edlbacher* und *Wiss*¹⁾ mitgeteilten Unter-

¹⁾ Helv. 28, 797 und 1111 (1945); 29, 216 (1946).

suchungen über die Aktivierung der *d*-Aminosäure-oxydase durch Histidin; es zeigt sich also, dass die genannten Enzymversuche auch die Verhältnisse des Gesamtorganismus zu erklären vermögen. Als weiteres wichtiges Resultat hat sich ergeben, dass bei Verabreichung von Histidin unabhängig von der absoluten Menge der verabreichten Aminosäure der Organismus immer einen bestimmten Prozentsatz der *d*-Aminosäure ausscheidet. Es scheint also, dass sich der tierische Organismus in weitgehendem Masse an die Menge der dargebotenen *d*-Aminosäure anpassen kann. Es handelt sich hier demnach um ein eigentümliches Gleichgewichtssystem, welches noch der Klärung bedarf.

Zusammenfassung.

1. Es werden die Versuche von *Holtz* und *Credner* bestätigt, und es wird festgestellt, dass die Ratte im Gegensatz zum Meerschweinchen *d*-Histidin viel besser verwerten kann.

2. Nach wiederholter Injektion verwertet die Ratte immer einen bestimmten Prozentsatz des angebotenen *l*- oder *d*-Histidins, einerlei, ob eine niedrigere oder höhere Dosis subcutan verabreicht wird.

3. Auf Grund der Bestimmung mittels der *Kapeller-Adler*-Methode kann gesagt werden, dass im Harn höchstwahrscheinlich nur Histidin und keine Urocaninsäure ausgeschieden wird.

4. Verabreichtes *l*-Histidin ist nach ca. einer Stunde in Lunge, Leber, Niere und Muskel maximal in freier Form nachweisbar, während bei *d*-Histidin der Maximalwert zwischen 1 und 3 Stunden erreicht wird.

5. Sowohl *l*- als auch *d*-Histidin verursachen bei parenteraler Verabreichung eine zusätzliche Stickstoffausscheidung, woraus geschlossen werden kann, dass der Eiweißstoffwechsel durch die Verabreichung dieser Aminosäure aktiviert wird.

6. Die Befunde sind bei der Verabreichung der beiden optischen Antipoden von Histidin prinzipiell gleich; sie unterscheiden sich nur quantitativ.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. *S. Edlbacher*, der die Anregung zu diesen Versuchen gegeben hat, für seine zahlreichen Ratschläge an dieser Stelle meinen besten Dank auszusprechen.

Basel, Physiologisch-chemisches Institut der Universität.
