Weitere Beiträge zur Kenntnis von organischen Nahrungsstoffen mit spezifischer Wirkung.

XV. Mitteilung.

Ernährungsversuche mit künstlich dargestellten organischen Nahrungsstoffen und ferner mit aus zusammengesetzten organischen Nahrungsstoffen gewonnenen Bausteinen mit und ohne Zusatz von Nutraminen.

Von

Emil Abderhalden, Halle a. S.

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

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. Februar 1922.)

Es wurde von jeher als ein besonders erstrebenswertes Ziel der Wissenschaft hingestellt, sämtliche organischen Nahrungsstoffe synthetisch im Laboratorium bereiten zu können. Bei jedem großen Fortschritt auf dem Gebiete der experimentellen Chemie und Physik wurde der Hoffnung Ausdruck gegeben, daß es in absehbarer Zeit möglich sein werde, unsere Nahrung künstlich darzustellen. Die Verwirklichung dieses Gedankens schien jedoch in unabsehbar weiter Ferne zu liegen. Bis vor kurzem war nämlich die Lösung des Problems der künstlichen Darstellung der Nahrungsstoffe gleichbedeutend mit der Herstellung von Eiweiß, Stärke, Fettsubstanzen usw., d. h. man glaubte die Darstellung der zusammengesetzten Nahrungsstoffe anstreben zu müssen. Nun besteht auch heute noch wenig Aussicht hochmolekulare zusammengesetzte Kohlenhydrate und Eiweißstoffe im Reagensglas gewinnen zu können, weil doch noch manche Frage der Gesamtstruktur ungelöst ist. In dem Augenblick, in dem es mir gelungen war, den einwandfreien Beweis zu führen, daß an Stelle von Eiweiß, die es zusammensetzenden Aminosäuren treten können, erhielt das Problem der künstlichen Darstellung der Nahrungsstoffe ein ganz anderes Gesicht. Es ist bekanntlich geglückt, Tiere und vor allen Dingen Hunde, mit nur aus Bausteinen der zusammengesetzten Nahrungsstoffe bestehenden Produkten zu ernähren¹⁾, wobei allerdings nur dann auf lange Zeit hinaus ein voller Erfolg zu erzielen

¹⁾ Vgl. die Literatur: *Emil Abderhalden*, Lehrbuch der physiol. Chemie. 4. Aufl. 1, 534 ff.

war, wenn die Bausteine, und insbesondere die Aminosäuren, nicht aus reinen zusammengesetzten Nahrungsstoffen, sondern aus Nahrungsmitteln, wie z. B. Fleisch, gewonnen waren. Versuche, Tiere mit aus gereinigtem *Casein*, *Edestin* usw. gewonnenen Aminosäuren längere Zeit zu ernähren, ergaben regelmäßig nach mehr oder weniger langer Zeit Mißerfolge. Es sind von mir noch eine Reihe derartiger Versuche durchgeführt worden, und zwar erhielten die Versuchstiere mehrfach umkrystallisierten Rohr- und Traubenzucker, ferner stickstofffreien Speck. Endlich ein Aminosäurengemisch, das aus sorgfältig gereinigten Eiweißkörpern bereitet war. Dazu kam ein Gemisch von Mineralstoffen der weiter unten mitgeteilten Zusammensetzung. Es gelang mit diesem Gemisch Mäuse, Ratten und Hunde einige Zeit im Stickstoffgleichgewicht zu halten. Als Versuchstiere wurden ausschließlich erwachsene Tiere verwendet. Bei den Mäusen zeigten sich schon nach 2–3 Wochen Störungen. Die Tiere schliefen viel, sie vernachlässigten die Pflege des Felles. Sie machten schließlich einen direkt kranken Eindruck. Ihr Appetit nahm ab. Das Körpergewicht fiel. Die Stickstoffbilanz wurde negativ. Bei den Ratten traten dieselben Erscheinungen durchschnittlich zwischen der 3. und 4. Woche auf. Bei Hunden wurden zumeist in der 6. Woche Störungen beobachtet. Auch bei ihnen fiel das Körpergewicht, und die Stickstoffbilanz wurde negativ. Viele Versuche mußten aufgegeben werden, weil die Nahrungsaufnahme mehr oder weniger vollständig zum Stillstand kam. Zusatz von geringen Mengen von Rüböl, von Hefe oder von Kleie verhinderten das Zustandekommen der erwähnten Störungen. Sie konnten ferner, falls schon aufgetreten, durch die Zugabe dieser Stoffe zur Nahrung überwunden werden. Die Hauptversuche mit den erwähnten Zusätzen sind an Mäusen und Ratten durchgeführt worden. Es ließ sich so auch auf diesem Wege die bereits bekannte Tatsache feststellen, daß neben den uns bekannten Nahrungsstoffen noch solche notwendig sind, die uns einstweilen in ihrer Zusammensetzung noch unbekannt und die in ganz geringer Menge absolut unentbehrlich sind.

An und für sich war es kaum noch notwendig, nachdem bewiesen war, daß die Bausteine der bekannten, zusammengesetzten organischen Nahrungsstoffe unter Zugabe der notwendigen Mineralstoffe, des erforderlichen Wassers und des Nahrungsstoffes Sauerstoff plus den noch unbekannten Nahrungsstoffen zur normalen Ernährung ausreichen, den direkten Beweis zu führen, daß das Problem der künstlichen Darstellung der Nahrungsstoffe nunmehr bis auf die Herstellung der zuletzt erwähnten Stoffe und den wenigen durch Synthese aus einfacheren Stoffe noch nicht dargestellten Bausteine von organischen Nahrungsstoffen bekannter Natur gelöst ist. Wir haben trotzdem im Laufe der letzten Jahre immer wieder Versuche in dieser Rich-

tung unternommen, und zwar von verschiedenen Gesichtspunkten aus. Zunächst war es an und für sich interessant, Tiere im wesentlichen mit synthetisch dargestellten Nahrungsstoffen zu ernähren. Es war vorauszusehen, daß die Durchführung dieser Versuche mit vielen Enttäuschungen verbunden sein würde. Einmal bietet die Zuführung einer künstlich dargestellten Nahrung viel Schwierigkeiten. Bei den hohen Kosten und den relativ geringen Mengen an einzelnen Nahrungsstoffen, die sich in einem gewöhnlichen Laboratorium herstellen lassen, kamen für die Versuche nur kleine Versuchstiere in Frage, und zwar Mäuse und Ratten. Beide Arten von Versuchstieren sind für exakte Stoffwechselversuche nicht sehr brauchbar. Einmal ist es schwer, sie zur Aufnahme einer Nahrung zu bringen, die ihnen nicht zusagt. Man muß durch Vorversuche besonders gefräßige Tiere aussuchen. Viele Versuche gingen trotz allen möglichen Kunstgriffen, die der Aufnahme der verabreichten Nahrung galten, verloren, weil die Versuchstiere nach wenigen Tagen die Aufnahme der Nahrung verweigerten. Bei jeder Versuchsreihe blieben immer nur ganz wenige Tiere übrig, bei denen die beabsichtigte Untersuchung zu Ende geführt werden konnte. Ratten und Mäuse erschweren außerdem die Durchführung von exakten Stoffwechselversuchen dadurch, daß sie Harn und Kot auffressen. Außerdem stört außerordentlich, daß die Tiere vielfach das Futter im Käfig verstreuen. Es bleibt nichts anderes übrig, als die Tiere während der ganzen Futterverabreichung unablässig zu beobachten und, nachdem die Nahrungsaufnahme beendet ist, sofort etwa noch vorhandene Nahrungsreste zu entfernen. Bei den meisten Versuchen mußte ich mich mit der Verfolgung des Körpergewichtes und der Beobachtung des Verhaltens der Tiere begnügen. Eine große Zahl von Stickstoffstoffwechselversuchen mußte als nicht einwandfrei verworfen werden.

Es war a priori zu erwarten, daß mit den künstlich dargestellten Nahrungsstoffen kein Tier auf längere Zeit vollwertig zu ernähren war, weil wir noch nicht imstande sind, die auch heute noch in ihrer Zusammensetzung unbekannten Nahrungsstoffe, die in der Hefe, in der Kleie usw. enthalten sind, synthetisch herzustellen. Sobald der künstlich dargestellten Nahrung etwas Hefe oder Kleie hinzugefügt wurde, dann blieben die Versuchstiere bedeutend länger in einem guten Ernährungszustande, als wenn jene Stoffe in der Nahrung fehlten. Oft zeigten sich im letzteren Falle nach überraschend kurzer Zeit schwere Erscheinungen. Zu beachten ist auch, daß die Resorption der künstlich dargestellten Nahrung nicht immer eine gute ist. Es konnten wiederholt aus den Faeces schwerlösliche Aminosäuren zurückgewonnen werden.

Ein wesentlicher Grund für die Durchführung der außerordentlich mühevollen Versuche war der folgende:

Es wird ohne Zweifel eines schönen Tages der Schleier von den bisher unbekannten Nahrungsstoffen gelüftet werden. Man wird ihre Natur erkennen und dann in absehbarer Zeit ihre Synthese in Angriff nehmen können. Es würde von ganz besonderer Bedeutung sein, wenn es gelänge, durch ihren Zusatz zu einer künstlich dargestellten Nahrung, in der die unentbehrlichen, bekannten organischen und anorganischen Nahrungsstoffe in ihren Bausteinen alle vertreten sind, ein vollwertiges Nahrungsgemisch herzustellen. Verwendet man die durch Abbau von Eiweißstoffen gewonnenen Aminosäuren, dann ist immerhin noch der Einwand möglich, daß diesen Spuren jener unbekannten Nahrungsstoffe anhängen. Wir müssen damit rechnen, daß eine ganze Reihe von unbekannten Nahrungsstoffen mit ganz verschiedenen Aufgaben im Zellstoffwechsel eine Rolle spielen. Es muß sich am klarsten herausheben, ob noch solche Stoffe fehlen, wenn man als Grundlage ausschließlich wohldefinierte, bekannte chemische Verbindungen zur Verfügung hat.

Es war beabsichtigt, von dieser Grundlage ausgehend, eine Reihe von Produkten, die aus Hefe und Kleie gewonnen worden sind, auf ihre Wirksamkeit zu prüfen. Leider wird es in absehbarer Zeit nicht möglich sein, derartige Versuche zu wiederholen, denn die synthetische Darstellung aller Aminosäuren erfordert heutzutage so große Geldsummen, daß sie unmöglich geworden ist. Die zu den einzelnen Untersuchungen verwendeten Aminosäuren sind im Laufe der letzten 12 Jahre nach bekannten Methoden dargestellt worden. Selbst das *Tryptophan* wurde einmal synthetisch bereitet. Die Ausbeute an dieser Aminosäure war leider sehr gering. Schon dadurch war der Durchführung unserer Versuche eine ziemlich enge Grenze gesetzt, weil bekanntlich Tryptophan ein durch andere Aminosäuren nicht ersetzbarer Eiweißbaustein ist¹⁾. Fehlt Tryptophan in der Nahrung, dann zeigen sich überraschend bald Störungen. Nach dieser Richtung konnte ich im Laufe der letzten Jahre noch eine ganze Reihe wichtiger Einzelbeobachtungen machen. Beim Fehlen von Tryptophan in der Nahrung wurden nach wenigen Tagen Erscheinungen beobachtet, die sich nicht einfach dadurch erklären lassen, daß der Organismus infolge des Fehlens dieser Aminosäure die übrigen Eiweißbausteine nicht ausreichend verwerten kann und dadurch in gewissem Sinne hungert. Es zeigten sich nämlich wiederholt auffallend stark negative Stickstoffbilanzen. Wurden die Versuche über längere Zeit hinaus durchgeführt, dann zeigte es sich, daß die Hungertiere sich bedeutend besser hielten als Tiere, die Kohlenhydrate, Fette und ein Aminosäurengemisch erhielten, dem der Baustein Tryptophan fehlte. Die Tiere machten nach relativ kurzer Zeit einen krank-

¹⁾ Vgl. hierzu Willkock und F. G. Hopkins, Journ. of Physiol. **35**, 88. 1907. — Emil Abderhalden, Zeitschr. f. physiol. Chem. **57**, 348. 1908; **77**, 22. 1912; **83**, 444. 1913.

haften Eindruck. Mäuse und Ratten starben mehrmals schon nach 5 bzw. 10 Tagen. Hunde waren nach 2—3 Wochen ganz matt und verweigerten jegliche Nahrungsaufnahme. Zugabe von Tryptophan zur Nahrung brachte nach kurzer Zeit Erholung. Man hat den Eindruck, als ob das Tryptophan als gänzlich unentbehrlicher Nahrungsstoff in ähnlicher Weise wirkt, wie die bis jetzt unbekannten Nahrungsstoffe. Ganz geringe Mengen davon genügen. Würde dieser wichtige Nahrungsstoff nicht als Eiweißbaustein bekannt sein, sondern vielmehr für sich isoliert vorkommen, dann würde er nach seiner ganzen Wirkungsweise und nach seiner Bedeutung gewiß ohne weiteres in die Gruppe der sog. *Vitamine* bzw. *Nutramine* eingereiht werden. Tryptophan kommt ganz sicherlich nicht nur als Baumaterial von Zelleiweiß in Frage. Es hat ohne Zweifel darüber hinaus noch besondere Aufgaben im Zellstoffwechsel zu erfüllen. Ganz entsprechend liegen die Verhältnisse offenbar auch beim *Cystin*¹⁾ und beim *Lysin*²⁾. Die Zahl jener Aminosäuren, die spezifische, unersetzbare Wirkung haben, ist damit sicherlich noch nicht erschöpft.

Es seien (vgl. die Kurventabellen S. 218—223) einige der durchgeführten Versuche, soweit sie einigermaßen gelungen sind, mitgeteilt. Erwähnt sei, daß in den Hauptversuchen nur diejenigen Aminosäuren zur Verabreichung gelangten, die im Eiweiß enthalten sind, d. h. es wurden diesynthetisch dargestellten Aminosäuren in ihre optisch-aktiven Komponenten gespalten. Nur die Aminosäuren *Lysin*, *Arginin*, *Tryptophan*, *Oxyprolin*, *Cystin* wurden ausschließlich in der *Razemform* verabreicht, weil die Zerlegung in die optisch-aktiven Formen noch nicht ausgeführt ist. Ferner mußte auf die Synthese von *Glutaminsäure* verzichtet werden, weil sie noch nicht bekannt ist. Nicht dargestellt und auch nicht verfüttert wurde *Oxyglutaminsäure*. Das Fehlen dieser Aminosäure machte sich nicht bemerkbar. Wurden *racemische* Aminosäuren verfüttert, dann konnten aus dem Harn regelmäßig die in der Natur nicht vorkommenden Komponenten isoliert werden.

Unsere Versuche zeigen, daß wenigstens für einige Zeit die künstlich dargestellten Bausteine der zusammengesetzten organischen Nahrungs-

¹⁾ Vgl. hierzu *Emil Abderhalden*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **96**, 1. 1915. — *Thomas B. Osborne* und *Laf. B. Mendel*: J. of biol. chem. **20**, 351. 1915. — *Carl O. Johns* und *A. J. F. Finks*: Ebenda, **41**, 379. 1920. — *Howard B. Lewis*: Ebenda **31**, 363. 1917; **42**, 289. 1920. — *Barnett Sure*, The J. of biol. chem. **50**, 103. 1922.

²⁾ *Lysin*, *Arginin* und *Histidin* haben beim Wachstum eine besondere Bedeutung. Vgl. *Thomas B. Osborne* und *Laf. B. Mendel*, J. of biol. Chem. **25**, 1. 1916; **26**, 293. 1916. — *H. H. Mitchell*, Ebenda, **26**, 231. 1916. — *A. Akroyd* und *F. G. Hopkins*, Biochem. J. **10**, 551. 1916. — Vgl. auch *Howard B. Lewis* und *Lucie E. Root*: J. of biol. chem. **43**, 79. 1920. — Vgl. weitere Literatur über die Bedeutung einzelner Aminosäuren: *Emil Abderhalden*, Lehrbuch d. physiol. Chemie 4. Aufl., **1**, 546 u. **2**, 467 ff.

stoffe für diese eintreten können, sofern die uns noch nicht bekannten Nahrungsstoffe der Nahrung zugefügt werden. Es ist uns dagegen nicht gelungen, diese Art der Ernährung ohne Zugabe der zuletzt genannten Stoffe auf lange Zeit hinaus durchzuführen. Es zeigten sich Störungen von seiten des Appetits. Wahrscheinlich ist es auch nicht gleichgültig, wenn auf die Dauer ausschließlich Bausteine zur Verabreichung kommen, denn es wird dadurch eine wichtige Einrichtung im Magendarmkanal umgangen. Der Magen entläßt normalerweise den Speisebrei in nur geringen Mengen in den Darmkanal. Dort wird der zum Teil schon eingeleitete, stufenweise Abbau der zusammengesetzten Nahrungsstoffe durchgeführt. Es werden fortgesetzt Spuren von Traubenzucker, von Aminosäuren, von Glycerin, von Fettsäuren usw. in Freiheit gesetzt. Die entstandenen Bausteine gelangen zur Resorption und werden rasch durch die Leber hindurch in den Gesamtkreislauf übergeführt. Indem wir ausschließlich Bausteine verabreichen, überschütten wir den Organismus mit diesen. Interessant ist, daß mehrfach Schädigungen der Nieren beobachtet werden konnten. In einzelnen Fällen waren die Nieren mit schwerlöslichen Aminosäuren vollgepfropft¹⁾. Es ließen sich in den Harnkanälchen krystallisiertes *Tyrosin* und *Cystin* nachweisen. Es ist wohl möglich, daß die Verwendung der verabreichten Bausteine im Zellstoffwechsel keine so ergiebige und geregelte ist, wie wenn zusammengesetzte Nahrungsstoffe verabreicht werden. Man könnte diesem Punkt natürlich Rechnung tragen und dafür sorgen, daß die Nahrungsaufnahme so geregelt wird, daß immer nur kleine Mengen zur Aufnahme gelangen.

Selbstverständlich geben unsere ganzen Erfahrungen keinen Anhaltspunkt dafür, daß die künstliche Darstellung von Nahrungsstoffen, ins Praktische übertragen, ein erstrebenswertes Ziel darstellt. Es wird im Gegenteil der Beweis geführt, daß die künstliche Darstellung von Nahrungsstoffen wohl für immer ein Laboratoriumsexperiment bleiben wird. Die Pflanzenwelt ist uns in dieser Hinsicht weit überlegen. Sie arbeitet mit Energie (Sonnenenergie), die in jeder beliebigen Menge zur Verfügung steht. Sie baut aus einfachen Stoffen (Kohlensäure, Wasser usw.) unausgesetzt die mannigfaltigsten Verbindungen auf. Wir erhalten mit der natürlichen Nahrung alle notwendigen Stoffe in der geeigneten Mischung. Dazu kommt, das mag nicht unerwähnt bleiben, daß die Vorstellung mancher Phantasten, als würde mit der künstlichen Herstellung von Nahrungsstoffen das Problem der Ernährung in der Gestalt gelöst sein, daß man nur noch einige kleine Pillen zum Leben brauchte, ganz unsinnig ist. Ein erwachsener Mensch müßte etwa 500 g Zucker, 50 g Bausteine der Fette und gegen 100 g Aminosäuren aufnehmen. Dazu kämen dann noch die Mineralstoffe.

¹⁾ Vgl. hierzu *Emil Abderhalden* und *Otto Kankleit*, *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.* 5, 173. 1916.

Es wird auch in Zukunft außerordentlich viel bedeutungsvoller bleiben, möglichst weite Ackerflächen für den Anbau von Nahrungsmitteln (Kartoffeln, Getreide usw.) dadurch zu erobern, daß die Anpflanzung von solchen Gewächsen, die Produkte liefern, die zur Ernährung von Mensch und Tier keine Verwendung finden, überflüssig wird. Es sei an die synthetische Darstellung von Farbstoffen (Indigo, Alizarin), von Alkaloiden usw. erinnert. Würde es gelingen, alle jene Äcker in Deutschland, die zur Anpflanzung von Tabak, Hopfen usw. Verwendung finden, ausschließlich zur Erzeugung von Nahrungsmitteln zu verwenden, dann würde auf diesem Wege die Ernährung des deutschen Volkes auf eigener Scholle wohl ermöglicht werden können.

Es knüpfen unsere Versuche an jene an, die im Jahre 1912¹⁾ und 1915²⁾ mitgeteilt worden sind. In der zuerst genannten Mitteilung sind bereits Erfahrungen mitgeteilt, die bei der Verabreichung eines Gemisches von Aminosäuren gewonnen worden sind, und zwar wurden reine, aus Eiweiß gewonnene Aminosäuren gemischt verabreicht. In der späteren Mitteilung wurde in der Hauptsache versucht, festzustellen, welche Aminosäuren unentbehrlich und welche ersetzbar sind. Ferner wurde der wichtigen Frage nachgegangen, ob bestimmte Aminosäuren sich durch ihre nächsten Abbaustufen ersetzen lassen. Geprüft wurden Ketosäuren. In der Zwischenzeit hat *H. H. Mitchell*³⁾ über Untersuchungen berichtet, die zum Zweck hatten, Mäuse mit einigen Aminosäuren zu ernähren. So wurden u. a. die 6 Aminosäuren Tyrosin, Cystin, Glutaminsäure, Tryptophan, Histidin und Arginin verabreicht. Dieses Gemisch an Eiweißbausteinen reichte nicht aus, um die Versuchstiere im Körpergleichgewicht zu erhalten. Wurde die Zahl der Aminosäuren vermehrt und wurden die Mengenverhältnisse, in denen die verschiedenartigen Aminosäuren miteinander vermischt wurden, verändert, so blieb im wesentlichen das Versuchsergebnis das gleiche. Die Versuchstiere verloren mehr oder weniger rasch an Körpergewicht. Es war z. B. ohne besonderen Einfluß, ob das Aminosäuregemisch Tyrosin und Phenylalanin enthielt. Eine Sonderstellung wird nur dem Tryptophan zuerkannt, dessen Fehlen sich scharf im Verlauf der Körpergewichtskurve abhebt. *Mitchell* hebt die Möglichkeit hervor, daß die Ergebnisse seiner Versuche dadurch bedingt sein könnten, daß die Versuchstiere zu wenig von den einzelnen Aminosäuren aufnahmen. Es ist leicht möglich, daß der Umstand, daß nicht alle Aminosäuren in der in der Natur vorkommenden optisch-aktiven Form zur Verwendung gekommen sind, ganz besonders im erwähnten Sinne wirkte. Es müssen die von *Mitchell* verfütterten Aminosäuremengen, soweit razemische Verbindungen verabreicht

¹⁾ *Emil Abderhalden*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **97**, 22. 1912.

²⁾ *Emil Abderhalden*, ebenda **96**, 1. 1915.

³⁾ *H. H. Mitchell*, J. of biol. chem. **26**, 231. 1916.

wurden, durch zwei geteilt werden, weil sehr wahrscheinlich nur je die Hälfte davon für die Zellen verwertbar war. Die nicht in der Natur vorkommenden optisch-aktiven Formen verlassen den Körper zum großen Teil und vielleicht auch ganz unverändert. So wurden Alanin, Leucin, Isoleucin und Phenylalanin und auch Valin offenbar in der Racemform verfüttert, denn alle diese Eiweißbausteine wurden durch Synthese gewonnen bzw. als Handelsprodukte gekauft. Es geht ferner nicht aus der Mitteilung von *Mitchell* hervor, ob die verwendeten Aminosäuren ganz rein waren. Vom verwendeten Prolin wird angegeben, daß es unrein war, indem der alkoholische Auszug eines Aminosäuregemisches ohne weitere Reinigung zur Verwendung kam. Bekanntlich werden die verschiedensten Aminosäuren in Alkohol gelöst, wenn Gemische vorliegen. Es findet ein Mitlösen statt. Auf der anderen Seite gehen in den Alkohol Zersetzungsprodukte hinein, die es oft sehr schwer machen, das Prolin zu reinigen. Es ist wohl möglich, daß die Ergebnisse der Versuche von *Mitchell* durch die erwähnten Momente ganz wesentlich beeinflußt worden sind.

Mitchell erwähnt ferner, daß die Mäuse genau unterschieden, ob den stickstofffreien Nahrungsstoffen Aminosäuren zugefügt waren oder nicht. Im ersteren Falle war die Nahrungsaufnahme geringer. Wir halten es nicht für ausgeschlossen, daß Gerüche, die nicht den Aminosäuren eigen sind, von entscheidendem Einfluß waren. So ist das reine Phenylalanin ganz geruchlos, während das im Handel befindliche einen ganz intensiven Geruch aufweist. Man muß das Handelsprodukt eingehend reinigen, wenn man es ganz rein erhalten will.

Es ist absolut notwendig, daß alle Versuche über den Nährwert von Aminosäuregemischen und über die biologische Bedeutung der einzelnen Aminosäuren ausschließlich mit absolut reinen Aminosäuren durchgeführt werden. Ferner wird man nur im Notfall zu Racemverbindungen greifen, weil ganz sicher in diesem Fall ein erheblicher Teil und vielleicht 50% des in dieser Form zugeführten Stickstoffs unverwertbar ist. Man wird ferner kaum mit der Beobachtung der Versuchstiere und der Verfolgung des Körpergewichts auskommen. Es ist durchaus notwendig alle Versuche an Hand von Stickstoffstoffwechselversuchen zu verfolgen, um einen tieferen Einblick in die Wirkungsweise der einzelnen Nahrungsarten zu erhalten. Man wird endlich, falls eine bestimmte Nahrung sich als ungenügend erweist, versuchen müssen, durch Änderungen in der Menge der einzelnen Nahrungsstoffe eine Besserung herbeizuführen. Handelt es sich um die Prüfung der biologischen Wertigkeit von Eiweißarten und Eiweißabkömmlingen, dann wird man vor allem versuchen müssen, durch Steigerung der Menge der stickstofffreien organischen Nahrungsstoffe ein etwa nicht vorhandenes relatives Stickstoffminimum zu erreichen.

Auf einen Punkt sei noch ganz besonders hingewiesen. Kurzfristige Stickstoffbilanzversuche haben bei Verabreichung von Aminosäuregemischen keinen Wert. Wir konnten oft feststellen, daß die Ausscheidung des Stickstoffs sich über längere Zeit hinzog. Besonders eindeutig werden solche Feststellungen, wenn man Aminosäuren verfüttert, die Komponenten enthalten, die im Harn zur Ausscheidung gelangen. Gibt man dl-Leucin, dl-Phenylalanin, dl-Tyrosin, dann kann man oft 8 Tage lang nach der letzten Zufuhr der betreffenden Aminosäure noch solche im Harn nachweisen, ein Zeichen dafür, daß die Ausscheidung ganz allmählich vor sich geht. Die in der Natur nicht vorkommende optisch-aktive Komponente des Racemkörpers wird nach Abbau der „natürlichen“ Form offenbar irgendwo im Körper — wahrscheinlich in der Leber — zurückgehalten und in kleinen Mengen dem Blute übergeben. Geraten auf einmal größere Mengen schwerlöslicher Aminosäuren zur Ausscheidung durch die Nieren, dann kommt es zur Verstopfung der Harnkanälchen¹⁾.

Einer besonderen Prüfung auf ihren Nährwert bedürfen unter allen Umständen die nicht stickstoffhaltigen Anteile der Nahrung. Wir gingen so vor, daß wir zu dem Mineralstoffgemisch und den stickstofffreien organischen Nahrungsstoffen ein vollwertiges, möglichst gereinigtes Eiweiß hinzugaben und prüften, ob das verabreichte Gemisch zur Erhaltung des Körpergewichtes genügte und sich ferner Stickstoffgleichgewicht erzielen ließ. War die Stickstoffbilanz negativ, dann wurde die Nahrung so lange in ihren Bestandteilen und im Verhältnis der einzelnen Komponenten zueinander verändert, bis ein biologisch vollwertiges Gemisch an Nahrungsstoffen vorlag. Erst dann wurde das Eiweiß — z. B. Casein — durch das zu prüfende Gemisch von Aminosäuren ersetzt. In keinem Falle wurde dabei die gleiche Stickstoffmenge in Form von Eiweißbausteinen zugeführt, wie sie sich bei Verabreichung von Eiweiß als genügend erwiesen hatte, sondern stets eine etwas größere Menge. Es muß damit gerechnet werden, daß ein Teil der Aminosäuren ein Opfer der Darmflora wird, und zwar in einem höheren Maße, als wenn die Aminosäuren aus Eiweiß und Peptonen im Verlaufe der Verdauung allmählich entstehen. Dazu kommt, daß die schwerlöslichen Aminosäuren vielleicht schwerer resorbiert werden, wenn sie in größerer Menge auf einmal im Darmkanal zugegen sind, als wenn sie durch Abbau von Eiweiß und Peptonen an Ort und Stelle in geringen Mengen fortlaufend entstehen.

Unsere Versuche lassen sich am besten nach folgenden Fragestellungen überblicken:

1. *Gelingt es, erwachsene Tiere mittels der Bausteine der zusammengesetzten organischen Nahrungsstoffe unter Hinzufügung der anorganischen*

¹⁾ Vgl. hierzu *Emil Abderhalden* und *Otto Kunkel*, l. c.

Nahrungsstoffe in einfachster Form im Stoffwechselgleichgewicht zu erhalten und, wenn ja, wie lange?

Zur Beantwortung dieser Frage sind die folgenden Versuche unternommen worden:

1. *Es wurden die Bausteine der zusammengesetzten organischen Nahrungsstoffe soweit als möglich synthetisch bereitet und in jene Form übergeführt, die in der Natur vorkommt.*

2. *Es wurden alle Bausteine, die sich als unentbehrlich erwiesen haben, aus Naturprodukten gewonnen und peinlich genau gereinigt.* In der Hauptsache handelte es sich darum, die einzelnen Aminosäuren aus bestimmten, an einzelnen Eiweißbausteinen besonders reichen Proteinen darzustellen und durch Umkrystallisieren und, wo es notwendig war, durch Darstellung von Derivaten zu reinigen. Die Monoaminosäuren wurden zum großen Teil über ihre Ester vollständig von Verunreinigungen befreit. Man arbeitet dabei allerdings unter ganz erheblichen Verlusten.

Das Ergebnis dieser Versuche war, daß es gelingt, erwachsene Tiere einige Zeit im Stoffwechselgleichgewicht zu erhalten, wenn entweder synthetisch gewonnene Aminosäuren oder aus Eiweiß erhaltene, sorgfältig gereinigte Bausteine als einzige stickstoffhaltige Nahrungsstoffe neben Glucose, Glycerin, Fettsäuren und Mineralstoffen verabreicht werden. Gleichzeitig durchgeführte Bestimmungen der Stickstoffbilanz ergaben, daß bei Ratten im Durchschnitt 14 Tage lang Stickstoffgleichgewicht bestehen kann. Das Maximum der Zeit, das bisher festgestellt werden konnte, betrug 21 Tage. Es setzen dann zunächst kleine Minusbilanzen ein, die dann zumeist rasch zunehmen. Parallel verläuft das Verhalten des Körpergewichtes. Es hält sich im Durchschnitt etwa 14 Tage auf seiner Höhe, um dann allmählich zu fallen. Schließlich setzt dann oft ein ganz rascher Abfall des Körpergewichtes ein.

Das Wesentliche ist, daß bei Ersatz des Aminosäuregemisches durch ein biologisch als vollwertig bekanntes Eiweiß, falls es sorgsam gereinigt ist, zwar Stickstoffbilanz und Körpergewicht sich etwa 10 Tage länger halten, es kommt aber dann auch zu Gewichtsabnahmen und zu negativen Bilanzen.

In beiden Fällen, sei nun ein Aminosäuregemisch oder Eiweiß verabreicht worden, gelingt es nicht, durch Steigerung der Menge der einzelnen Nahrungsstoffe wesentlich bessere Ergebnisse zu erzielen.

Übrigens sind die individuellen Schwankungen recht groß. Bei einzelnen Tieren, die gut fraßen, war die Stickstoffbilanz fast vom ersten Versuchstage ab etwas negativ. Das Körpergewicht fiel sehr bald. Unberücksichtigt sind alle jene an Zahl die Mehrzahl bildenden Versuche, bei denen die Verweigerung der Aufnahme der gesamten dargebotenen Nahrung große Unsicherheiten in die Versuchsergebnisse hineingetragen wurden.

Die oben erwähnten Versuche wurden auch an *wachsenden Tieren* ausgeführt. *Es gelang in keinem Falle, das Wachstum beizubehalten.* Entsprechende Versuche wurden an Mäusen ausgeführt. Die Ergebnisse waren bei ausgewachsenen und wachsenden Tieren die gleichen, wie bei den Ratten. Es gelang durchschnittlich etwa 9 Tage Stickstoffgleichgewicht beizubehalten. Das Maximum betrug 15 Tage. Es folgten auch hier einige Tage mit geringen negativen Stickstoffbilanzen. Dann ging das Körpergewicht rascher zurück und zugleich wurde die Stickstoffbilanz stärker negativ.

Welchen Einfluß hat auf das Gesamtergebnis der oben erwähnten Versuche der Zusatz von Hefepräparaten?

Verwendet wurden *Hefeautolysat, alkoholisches Hefeextrakt* und vor allem *Trockenhefe*. Wir wollen hier in erster Linie die mit dieser erhaltenen Ergebnisse berücksichtigen, weil sie die bei weitem besten und zugleich eindeutigsten waren. Verabreicht wurde *0,1 g Trockenhefe = 0,0072 g Stickstoff*. In einigen Fällen wurde auch nur die Hälfte dieser Menge gegeben. In besonderen Versuchen wurde festgestellt, daß auch noch geringere Mengen genügen, um eine deutliche Wirkung zu entfalten.

Es zeigte sich, daß bei Zusatz von Hefe Ratten und Mäuse mit einem Gemisch von Aminosäuren, Glucose, Glycerin, Fettsäuren, Mineralstoffen lange Zeit im Stickstoffgleichgewicht bleiben, ihren Körperbestand aufrecht erhalten, ja verlorenes Körpergewicht ersetzen können. Wachsende Tiere wachsen bei Verabreichung der erwähnten Nahrung weiter.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß die Ergebnisse noch bessere sein würden, wenn nicht die Ernährungsweise und damit die ganzen Lebensbedingungen der Versuchstiere so sehr von der Norm abwichen. Die Aufnahme des Futters bereitete große Schwierigkeiten. Sie erschienen mir lange Zeit für unüberwindlich, gingen doch zahlreiche Versuche im Laufe der Zeit dadurch verloren, daß die Nahrung nur teilweise aufgenommen und schließlich verweigert wurde. Man muß unter allen Umständen die Menge der Nahrung möglichst klein halten und die Tiere durch Vorversuche an die Aufnahme von etwas weichem Futter gewöhnen.

Eine weitere Frage, die sich hier anschließt, ist die, *welche biologische Bedeutung die einzelnen Aminosäuren haben.* Verwendet man Gemische von Aminosäuren, die man sich durch Zusammenmischen von reinen Aminosäuren bereitet, dann hält es leicht, die eine oder andere Aminosäure fortzulassen und zu prüfen, welche Folgen eintreten. Wir haben zunächst derartige Versuche ohne jeden Zusatz von Nutraminen durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen waren jedoch oft vieldeutig, weil bei Verabreichung nutraminfreier Nahrung stets nach wechselnder Zeit Körpergewichtsabnahmen und negative Stickstoff-

bilanzen eintreten. Es war deshalb schwer, zu entscheiden, ob eine Gewichtsabnahme nach Fortlassung einer Aminosäure auf ihr Fehlen zurückzuführen war oder nicht. Nicht immer gelang es, durch Wiedergabe der fortgelassenen Aminosäuren einen eindeutigen Erfolg zu erzielen. Aus diesen Gründen haben wir die Hauptversuche unter Zugabe von Hefe und in einigen Fällen unter Zusatz von Butter durchgeführt.

Die Darstellung der einzelnen Bausteine der organischen Nahrungstoffe erfolgte nach folgenden Methoden:

Glykokoll aus *Monochloressigsäure* und *Ammoniak* (K. Kraut, *Annalen der Chemie und Pharmakol.* **266**, 292. 1891; J. Mauthner, *Monatshefte f. Chemie* **9**, 727. 1889; J. Mauthner und W. Suida, ebenda **11**, 373. 1890; vgl. auch Emil Abderhalden, *Physiologisches Praktikum* S. 119, 3. Aufl. J. Springer. Berlin 1922).

Glykokoll wurde, da der tierische Organismus diese Aminosäure selbst bilden kann, nicht immer der Nahrung zugefügt.

Alanin aus *Azetaldehyd* (Cyanhydrinmethode) (N. Zelinsky und G. Stadnikoff, *Ber. d. Dtsch. Chem. Ges.* **41**, 2061. 1908). Die Spaltung in die optisch-aktiven Komponenten erfolgte über die Benzoylverbindung mittels Brucin. (E. Fischer: *Ber. d. Dtsch. Chem. Ges.* **32**, 2456. 1899).

Serin aus *Chlorazetal* (H. Leuchs und W. Geiger, *Ber. d. Dtsch. Chem. Ges.* **39**, 2644. 1906). Spaltung in d- und l-Serin über die Nitrobenzoylverbindung mittels Chinin. (E. Fischer und W. A. Jacobs, ebenda **39**, 2942. 1906.)

α -Diamino- β -dithiodilaktysäure = *Cystin* aus Benzoylserinester nach Erlenmeyer jun., *Ber. d. Dtsch. Chem. Ges.* **36**, 2720. 1913. Die dl-Verbindung ist noch nicht in ihre optisch-aktiven Komponenten zerlegt.

α -Aminobuttersäure aus n-Buttersäure (E. Fischer und A. Mouneyrat, *Ber. d. Dtsch. Chem. Ges.* **33**, 2383. 1900) und Spaltung über die Formylverbindung mittels des Brucinsalzes. (Emil Abderhalden, H. Lang Chang und E. Wurm, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* **72**, 24. 1911.)

α -Aminoisovaleriansäure = *Valin* aus α -Bromisovaleriansäure und *Ammoniak* (E. Fischer, *Ber. d. Dtsch. Chem. Ges.* **39**, 2320. 1906). Spaltung in d- und l-Valin über die Formylverbindung mittels Brucin (E. Fischer, *Ber. d. Dtsch. Chem. Ges.* **39**, 2320. 1906).

α -Aminoisobutylessigsäure = *Leuzin* aus Isovaleraldehyd (Cyanhydrinmethode) (Limpricht, *Annalen d. Chemie und Pharmazie* **94**, 243. 1855; E. Fischer, *Ber. d. Dtsch. Chem. Ges.* **33**, 2372. 1900). Spaltung in die optisch-aktiven Komponenten über die Formylverbindung mittels Brucin (E. Fischer, *Ber. d. Dtsch. Chem. Ges.* **39**, 2928. 1906; E. Fischer und O. Warburg, ebenda **38**, 3997. 1905. Vgl. auch Emil Abderhalden, *Physiol. Praktikum*, 3. Aufl. J. Springer 1922.)

α -Amino- β -methyl- β -äthyl-propionsäure = *Isoleuzin* aus sekundärem Butylalkohol (F. Ehrlich, *Ber. d. Dtsch. Chem. Ges.* **41**, 1453. 1908; E. Abderhalden, P. Hirsch und P. Schuler, ebenda **42**, 3394. 1909). Spaltung in die optisch-aktiven Komponenten über die Formylverbindung mittels Brucin (R. Locquin, *Bull. de la soc. chim.* (4.) **1**, 595. 1907).

α -Aminocapronsäure = *Norleuzin* aus Gärungskapronsäure und Spaltung der dl-Verbindung über die Formylverbindung mittels Brucins (E. Fischer, *Ber. d. Dtsch. Chem. Ges.* **33**, 2370. 1900; Emil Abderhalden, C. Froelich und Dionys Fuchs, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* **86**, 454. 1913.)

Aminobornsteinsäure = *Asparaginsäure*: Erhitzen von Fumarsäure mit Ammoniak auf 150°. (Engel, *Bull. de la soc. chim.* **48**, 98. 1887; **50**, 150. 1888.) Spaltung in l- und d-Asparaginsäure über die Benzoylverbindung mittels Brucins (E. Fischer, *Ber. d. Dtsch. Chem. Ges.* **32**, 2451. 1899.)

Aminoglutarinsäure = *Glutaminsäure*: Keine Methode zur direkten synthetischen Bereitung vorhanden. Ihre Darstellung ist jedoch möglich, indem man Pyrrolidonkarbonsäure gewinnt und diese aufspaltet. Man könnte z. B. α -Pyrrolidinkarbonsäure = Prolin synthetisch gewinnen und diese durch Oxydation in Pyrrolidonkarbonsäure überführen. Versuche nach dieser Richtung waren allerdings bis jetzt nicht erfolgreich. Sie werden fortgesetzt. In tierischen Organismen scheint Glutaminsäure durch Prolin ersetzbar zu sein.

α -Amino- β -phenyl-propionsäure = *Phenylalanin* aus *Benzylmalonsäure* (*Emil Fischer*, Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. **37**, 3052. 1904). Spaltung in d- und l-Phenylalanin über die Formylverbindung mittels Brucins (*E. Fischer* und *Schoeller*, Ann. d. Chem. u. Pharm. **357**, 1. 1907.)

α -Amino- β -p-oxyphenylpropionsäure = *Tyrosin* aus p-Oxybenzaldehyd und Hippursäure (*Erlenmeyer jun.* und *Halsey*, Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. **30**, 2981. 1897; Ann. d. Chem. u. Pharmaz. **307**, 138. 1899). Spaltung in die optisch-aktiven Komponenten über den Benzoylkörper mittels Brucins (*E. Fischer*, Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. **32**, 2451. 1899).

α - ϵ -Diaminocaproinsäure = *Lysin* aus γ -Cyanpropylmalonsäureester (*Emil Fischer* und *Weigert*, Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. **35**, 3772. 1902). Die Zerlegung des Lysins in beide optisch-aktiven Komponenten ist noch nicht durchgeführt.

α -Amino- δ -guanidino-n-valeriansäure = *Arginin*: Die Darstellung erfolgte nach den von *S. P. L. Sørensen* (Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. **43**, 643. 1910) angegebenen Methode. Ornithursäure, gewonnen aus γ -Brompropylphtalimid (*S. Gabriel* und *J. Weiner*, Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. **21**, 2671. 1888), wurde nach *S. P. L. Sørensen* (Z. f. physiol. Chemie **44**, 448. 1905) in Monobenzoyl-ornithin verwandelt. Dieses ergibt mit Cyanamid α -Benzoylamino- δ -guanidino-valeriansäure. Beim Kochen dieser Verbindung mit Salzsäure entsteht dl-Arginin.

α -Amino- β -imidazolylpropionsäure = *Histidin* ist nach der Methode von *Frank Lee Pyman* (J. chem. soc. **99**, 1386. 1911) und Spaltung mittels Weinsäure (*Frank Lee Pyman*, l. c. und *Emil Abderhalden* und *Arthur Weil*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **77**, 135. 1912) gewonnen worden.

α -Amino- β -indolpropionsäure = *Tryptophan*: aus β -Indolaldehyd und Hippursäure nach *A. Ellinger* und *Flamand*, Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. **40**, 3029. 1907; Zeitschr. f. physiol. Chem. **55**, 8. 1908). Ausbeute gering. Spaltung nicht durchgeführt.

α -Pyrrolidincarbonsäure = *Prolin*. Seine Darstellung erfolgte zum Teil nach *Sørensen* (C. r. du Laborat. de Carlsberg, **6**, 148. 1905) aus Natriumphtalimid-malonsäurediaethylester und Trimethylenbromid, zum Teil nach *R. Willstätter* (Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. **33**, 1160. 1900) aus α - δ -Dibrompropylmalonsäureester und Ammoniak und endlich nach *E. Fischer* und *G. Zemplén* (Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. **42**. 1903) aus m-Nitrobenzoyl- δ -amino- α -bromvaleriansäure und Zerlegung des dl-m-Nitrobenzoylprolins mit Cinchonin.

Oxy- α -pyrrolidinkarbonsäure = *Oxyprolin*: Darstellung nach *H. Leuchs*, *Michele Guin* und *J. F. Brewster* (Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. **45**, 1960. 1912; *H. Leuchs* und *J. F. Brewster*, ebenda **46**, 986. 1913). Ausbeute an a-Verbindung gering. Es scheint, daß Oxyprolin entbehrlich ist. Es konnte der geringen Menge wegen, die zur Verfügung stand, nur bei einem Versuch zur Nahrung hinzugefügt werden.

Zur Darstellung der α -Oxyisokaproinsäure bzw. α -Oxyisobutylessigsäure wurde von synthetisch dargestelltem *Leuzin* ausgegangen. Dieses wurde in der bekannten Weise aus Isoamylalkohol dargestellt. Bei der Bildung des Isovaleraldehyds wurde die Ausbeute ganz wesentlich erhöht, indem beim Überdestillieren des Aldehyd-Alkoholgemisches die Temperatur bis auf 110° gesteigert und gleichzeitig beim Zutropfenlassen des Chromsäuregemisches Wasserdampf durch den Kolben strömen gelassen wurde. Die Ausbeute konnte so von 30 auf 50% erhöht werden. Das

dl-Leuzin wurde in der üblichen Weise über die Formylverbindung in seine optisch-aktiven Komponenten gespalten. Bei der Abscheidung des optisch-aktiven Leuzins aus seinem salzsauren Salz wurde mit Vorteil eine Aufschwemmung von Lithiumcarbonat verwendet.

Die Darstellung der α -Oxyisokapronsäure erfolgte zunächst in der gleichen Weise, wie es von mir und *Weil*¹⁾ beschrieben worden ist. Es wurde jedoch, nachdem die Nitritlösung unter guter Kühlung tropfenweise zugeführt worden war, das Reaktionsgemisch nicht direkt eingengt und ausgeäthert, vielmehr wurde das Gemisch mit n-Natronlauge neutralisiert. Der Neutralisationspunkt läßt sich ziemlich scharf an dem Auftreten einer orangefarbenen Tönung erkennen. Unterläßt man das Neutralisieren, dann entsteht *Anhydrid*. Dieses erschwert die Reinigung der α -Oxyisokapronsäure. Das neutralisierte Produkt wurde mit Tierkohle gekocht. Dann wurde filtriert, und das klare und fast farblose Filtrat zur Trockene eingedampft. Das zurückbleibende α -oxyisokapronsäure Natrium löst sich in viel heißem Alkohol. Beim Erkalten scheidet sich das Salz in feinen Krystallen aus. Die Ausbeute an diesem beträgt etwa 70% der Theorie. Das d- α -oxyisokapronsäure Natrium zeigte eine spezifische Drehung von $+15,2^\circ$. Die Linksverbindung drehte $-15,4^\circ$. Aus dem Natriumsalz läßt sich die freie Säure leicht durch verdünnte Schwefelsäure in Freiheit setzen und durch Ausschütteln mit Äther isolieren. Bei der Gewinnung der Oxyisokapronsäure erfreute ich mich der Mitarbeit von Herrn *F. Bilski*, dem auch an dieser Stelle gedankt sei.

Die *Zusammensetzung der Nahrung* war die folgende:

1. Aminosäuregemisch: Die einzelnen Aminosäuren wurden in folgenden Mengen mit einander vermischt:

Glykokoll 1 Teil, Alanin 5 Teile, Serin 1, Cystin 5, α -Aminobuttersäure 1, Valin 5, Leuzin 15, Isoleuzin 5, Norleuzin 3, Asparaginsäure 2,5, Glutaminsäure 10, Pyroglutaminsäure 2, Phenylalanin 5, Tyrosin 5, Lysin 5, Arginin 2,5, Histidin 5, Tryptophan 5, Prolin 5 und Oxyprolin 5 Teile.

Die einzelnen Aminosäuren wurden nach erfolgtem Abwiegen in dem erwähnten Mengenverhältnis innig gemischt und dann in einer Reibschale staubfein zerrieben. Um das Gemisch so gleichmäßig als nur möglich zu gestalten, wurde das Pulver durch einen Satz Siebe hindurchgeschickt. Größere Teilchen wurden so lange zerrieben, bis schließlich die gesamte Masse durch das engmaschigste Sieb hindurch ging.

2. Ersatz für Fett: Es wurden Palmitin-, Stearin- und Ölsäure in gleichen Mengen angewandt. Die beiden ersten wurden auch sehr fein gepulvert und dem Aminosäuregemisch in gleicher Korngröße hinzugefügt. Ölsäure und Glycerin wurden tropfenweise unter Umrühren dem Aminosäure-Fettsäure-Gemisch hinzugefügt. Vom Glycerin wurde mehr genommen als der auf ein Molekül Fett berechneten Menge entsprach, und zwar kamen auf ein Teil Fettsäuregemisch 0,5 Teile Glycerin.

3. Die Kohlehydrate waren in allen Versuchen durch Glukose oder Lävulose oder ein Gemisch von beiden vertreten.

4. Mineralstoffe. Sie wurden zum Teil in Form von Brunnenwasser zur Verfügung gestellt, zum Teil der Nahrung beigemischt. Das Salzgemisch bestand aus gleichen Mengen $MgSO_4$ und Eisenzitrat, dazu kam die anderthalbfache Menge $NaCl$ und NaH_2PO_4 , die doppelte Menge von Kalziumphosphat und die vierfache Menge von K_2HPO_4 und $CaCO_3$. Endlich wurde von $NaFl$ und NaJ der zehnte Teil der Kochsalzmenge angewandt.

V. In einem Teil der Versuche sind auch die Bausteine der *Nukleinsäuren*, und zwar *Adenin* und *Guanin*, ferner *Urazil*, *Zytosin*, *Thymin* bzw. *Adenosin* und

¹⁾ *Emil Abderhalden* und *Artur Weil*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **84**, 39. 1913.

Guanosin, ferner *Zytidin* und *Uridin* verfüttert worden. Endlich wurde vereinzelt *Cholesterin* der Nahrung zugesetzt, ganz vereinzelt auch *Kreatin*. Von den erwähnten Bausteinen haben wir Urazil (aus Harnstoff und Akrylsäure nach *Emil Fischer* und *Georg Roeder*, Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. **34**, 3752. 1901) synthetisch dargestellt. Es zeigte sich, daß alle erwähnten Verbindungen fehlen konnten, ohne daß sich Störungen bemerkbar machten. Es besteht jedoch durchaus die Möglichkeit, daß solche eingetreten wären, wenn die Versuche über eine noch längere Periode hindurch hätten durchgeführt werden können.

Schließlich wurde in einigen Versuchen der Nahrung *fruktosediphosphorsaures Natrium* hinzugefügt. Besondere Wirkungen ließen sich weder bei wachsenden noch bei erwachsenen Tieren feststellen.

Von den einzelnen Nahrungsstoffgemischen und einzelnen Nahrungsstoffen erhielten:

die Ratten:	die Mäuse:
Aminosäuregemisch 0,3—0,5 g Stickstoff	0,1—0,15 g Stickstoff
Glukose bzw. Lävulose 5—7,5 g	1—1,2 g
Fettsäuren je 1 g = 3 g	0,3 g
Glyzerin 0,5 g	0,1 g
(Adenin, Guanin, Uracil, Zytosin, Thymin, Cholesterin, Kreatin je 0,05 g, falls angewandt.)	
Mineralstoffe 3,5 g	1 g
Knochenasche 1 g	0,2 g

Wurden nicht die optisch-aktiven Aminosäuren verwendet, sondern *Razemkörper*, dann wurde die zweifache Menge an Aminosäuregemisch gegeben.

Aus den unten mitgeteilten Versuchen geht hervor, daß, wie schon mehrfach betont, *Tryptophan eine absolut unentbehrliche Aminosäure ist*. Ferner erwiesen sich die homocyclischen Aminosäuren *Tyrosin* und *Phenylalanin als nicht ersetzbar, wohl aber scheinen die beiden erwähnten Bausteine sich gegenseitig vertreten zu können*. Als nicht entbehrlich muß auch *Cystin* bezeichnet werden. Das Fehlen von *Glykokoll* und *Alanin machte sich nicht bemerkbar*. Es scheint, daß diese beiden Aminosäuren entbehrlich sind bzw. vom tierischen Organismus ersetzt werden können. Es wurde ferner geprüft, ob das gewöhnliche *Leucin* = α -*Aminoisobutylessigsäure* die übrigen *Monoaminosäuren mit 6 Kohlenstoffatomen vertreten kann*. Es scheint dies in der Tat der Fall zu sein. Ferner wurden *Lysin* und *Arginin* aus dem Aminosäurengemisch fortgelassen. Es trat Abnahme des Körpergewichtes und zugleich negative Stickstoffbilanz auf. Nach Hinzufügung der erwähnten Hexonbasen blieb das Körpergewicht auf gleicher Höhe und die Stickstoffbilanz wurde wieder = 0 bzw. schwach positiv. Wurde *Lysin* allein weggelassen, so fiel das Körpergewicht gleich wieder ab. Die Zugabe von *Lysin* äußerte sich sofort im Aufhören des Gewichtsverlustes. Ebenso konnte gezeigt werden, daß *Arginin* für sich aus der Nahrung fortgelassen, ein Fallen des Körpergewichtes bedingt. Vom *Histidin* konnte die *Unentbehrlichkeit* auch nachgewiesen werden und ebenso von den beiden Dicarbonsäuren *Asparagin- und Glutaminsäure*. In einigen Untersuchungen wurde geprüft, ob sich Glutaminsäure durch

Prolin ersetzen läßt. Leider ist kein einziger von diesen Versuchen glatt verlaufen. Es trat meist sehr frühzeitig Verweigerung der Nahrung auf. Es hält schwer *Prolin* in größeren Mengen in ganz reinem, geruchlosem Zustande zu erhalten. Das Eindampfen einer prolinhaltigen Lösung bedingt schon, daß ein lebhafter, an Pyridin erinnernder Geruch auftritt. Wir haben selbstverständlich die Lösungen unter stark vermindertem Druck eingedampft. Aber selbst dann gelingt es namentlich bei Gewinnung von optisch-aktivem *Prolin* nur schwer, es von jeder Spur von Zersetzungsprodukten freizuhalten. Wahrscheinlich hat dieser Geruch die Abneigung der Tiere gegen das größere Mengen dieser Aminosäuren enthaltende Futter bedingt. Immerhin gelang es bis zu 5 Tagen die Tiere im Körpergleichgewicht zu erhalten, so daß die Möglichkeit gegeben ist, daß *Prolin* für *Glutaminsäure* eintreten kann. Man könnte sich vorstellen, daß *Prolin* unter Oxydation in Pyrrolidoncarbon-säure übergeht, die unter Aufspaltung *Glutaminsäure* liefert.

Es soll ganz ausdrücklich betont werden, daß man mit allen Schlußfolgerungen über die biologische Wertigkeit von Aminosäuren außerordentlich vorsichtig sein soll. Zeigt es sich, daß beim Fortlassen einer bestimmten Aminosäure sich Störungen ergeben, die durch das Hinzufügen des fehlenden Eiweißbausteines glatt behoben werden, dann darf man wohl annehmen, daß die betreffende Aminosäure eine bestimmte Bedeutung hat und nicht ersetzbar ist. Wenn dagegen beim Fortlassen einer bestimmten Aminosäure aus der Nahrung sich keine Folgen zeigen, dann darf daraus nicht geschlossen werden, daß dem betreffenden Eiweißbaustein keine besonderen Funktionen im Zellstoffwechsel zukommen. Es besteht die Möglichkeit, daß der tierische Organismus die betreffende Aminosäure aus anderen Verbindungen herstellt. Ferner muß mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß sich Folgeerscheinungen zeigen würden, wenn die Versuche über längere Zeit ausgedehnt werden könnten.

Es bleibt der zukünftigen Forschung vorbehalten, die engeren Beziehungen zwischen bestimmten Eiweißbausteinen und Inkretstoffen in exakter Weise aufzuklären, und ferner festzustellen, welche Rolle jede einzelne Aminosäure mitsamt den aus ihr hervorgehenden Abbaustufen im Zellstoffwechsel spielt. Würde es gelingen, größere Tiere mit einem Gemisch von Aminosäuren zu ernähren, und ließen sich die Versuche auf ein größeres Material ausdehnen, dann könnten wahrscheinlich beim Weglassen bestimmter Aminosäuren Feststellungen gemacht werden, die für unsere ganze Auffassung des Zellstoffwechsels und der Zusammenarbeit der einzelnen Organe von allergrößter Bedeutung sein würden. Vor allen Dingen wäre es von großer Wichtigkeit, herauszubringen, wieweit man mit jenen Eiweißbausteinen an Menge heruntergehen kann, die sich als unentbehrlich erwiesen haben,

ohne daß sich Störungen geltend machen. Ohne Zweifel werden beständig Eiweißbausteine zur Bildung von Zelleiweiß verwendet. Fehlen in der Nahrung unersetzbare Aminosäuren, dann ist die Eiweißsynthese in den Zellen gefährdet. Man könnte daran denken, daß beim Abbau von sog. Zellumsatzeiweiß jene Bausteine vor dem weiteren Abbau bewahrt werden, die in der Nahrung nicht zugeführt werden. Es wäre dann alles Baumaterial zum Aufbau neuen Eiweißes zugegen. Nach allen unseren Erfahrungen wird von der Zelle dieser Weg offenbar nicht beschritten. Es könnte sich sonst das Fehlen bestimmter Eiweißbausteine in der Nahrung nicht so rasch geltend machen. Man muß allerdings hierbei noch bedenken, daß die Aminosäuren außer zum Aufbau von Eiweiß noch anderen, sehr wichtigen Zwecken dienen. Vielleicht ist es der Ausfall derartiger Leistungen, der sich so früh geltend macht und zu Störungen im Organismus führt. Wir lernen immer mehr und mehr erkennen, daß im Zellstaate Stoffe verschiedener Art in kleinsten Mengen entscheidenden Einfluß auf die einzelnen Funktionen ausüben. Allem Anschein nach sind viele Aminosäuren direkt oder indirekt in Form von Umwandlungsprodukten an der Bildung jener, allgemein als Inkretstoffe bezeichneten Produkte beteiligt.

Die mitgeteilten Beobachtungen geben eine weitere Grundlage zum Studium jener unbekannten, einstweilen *Vitamine*, *Nutramine* usw. genannten Stoffe. Es läßt sich die Wirkung der sog. Wachstumsstoffe und diejenige jener Produkte, die einen entscheidenden Einfluß auf die Zellatmung und andere Zellfunktionen haben, bei Verabreichung einer aus reinen Komponenten bestehenden Bausteinnahrung besonders scharf herausheben. Die Idee, daß die ganzen Erscheinungen, die bei Tauben und anderen Tieren nach einseitiger, ausschließlicher Ernährung mit geschliffenem Reis und anderen Nahrungsmitteln auftreten, die Folge des Vorhandenseins von giftig wirkenden Substanzen in der Nahrung sein könnten, gewinnt auf Grund unserer Versuche mit reinen Bausteinen der zusammengesetzten organischen Nahrungsstoffe wenig an Wahrscheinlichkeit. Es spricht vielmehr alles dafür, daß mit der Hefe und anderen Produkten Stoffe zugeführt werden, die absolut unentbehrlich sind, und die in den zusammengeführten Nahrungsbestandteilen noch nicht enthalten sind. Es sei erwähnt, daß wir ganz entsprechende Versuche auch mit Rübol, Butter, Lebertran, mit Zusatz von ganz geringen Mengen von Kohl, Löwenzahn, Rüben, ausgeführt haben. Es handelte sich jedoch bei allen diesen Versuchen um solche, die nicht mehr als 3 bis höchstens 4 Wochen umfaßten. Ein großer Teil davon mußte noch frühzeitiger abgebrochen werden, weil die Tiere die Nahrung verweigerten. In allen Fällen zeigte es sich, daß das Wachstum in Gang kommt, sobald die betreffenden Produkte der nutraminfreien Nahrung zugefügt werden.

Es sei im folgenden die Versuchsanordnung kurz geschildert, und im Anschluß daran aus der sehr großen Anzahl von Einzelversuchen diejenigen in Kurvenform dargestellt und kurz besprochen, die einen ausreichenden Zeitraum umfaßten, um bestimmte Schlußfolgerungen zuzulassen. Hierzu sei bemerkt, daß auch sehr viele von den mißglückten Versuchen bestimmte Schlüsse ermöglichten. Bald gelang es bei dem einen Tier eine bestimmte Periode über längere Zeit hinaus durchzuhalten, bald hatte man bei einem anderen Versuchstier bei einer anderen Periode Glück. Durch Kombination der aus den verschiedensten Versuchen gewonnenen Erfahrungen ließen sich auch schon manche sehr wertvolle Erfahrungen gewinnen. Es sei des Platzmangels wegen auf die Wiedergabe aller dieser Versuche verzichtet. Ebenso wollen wir davon absehen, die Tabellen über die Verfolgung der Stickstoffbilanz wiederzugeben. Es muß genügen, wenn darauf hingewiesen wird, daß die Stickstoffbilanz bei Erhaltensein des Körpergewichtes annähernd gleich Null war. Mit dem Eintreten von Körpergewichtsverlusten wurde die Stickstoffbilanz meistens sofort negativ. Mit der Zunahme an Körpergewicht ging eine positive Stickstoffbilanz parallel.

¶ Wir haben übrigens nach vielen Mißerfolgen, und nachdem wir trotz peinlicher Überwachung immer wieder feststellen mußten, daß Mäuse und Ratten Urin und Kot fressen, darauf verzichtet, den Stickstoffgehalt der erwähnten Ausscheidungen täglich festzustellen. Vielmehr wurden mehrere Tage und manchmal ganze Perioden zusammengefaßt. Der Kot wurde stets in seiner Gesamtheit der *Kjeldahl*-Methode unterworfen. Ich habe vielfach beobachtet, daß Mäuse und Ratten den Urin direkt aus der Harnröhrenmündung weg lecken. Nach unseren, nunmehr sehr ausgedehnten Erfahrungen kann man sich bei Untersuchungen der vorliegenden Art im allgemeinen auf die Bestimmung des Körpergewichtes verlassen, nachdem man in Vorperioden festgestellt hat, welche Stickstoffmengen bei einer bestimmten, zusammengesetzten Nahrung zugefügt werden müssen, damit die Versuchstiere im Stickstoffgleichgewicht bleiben. Ohne derartige Voruntersuchungen läuft man Gefahr, einfach deshalb zu negativen Ergebnissen zu kommen, weil das Stickstoffminimum unterboten ist.

Wir haben kein Versuchstier eher verwendet, bevor nicht festgestellt war, daß es mit Mineralstoffen, Glucose, Glycerin, Fettsäuren, und gereinigtem Eiweiß in Stickstoffgleichgewicht und bei Steigerung der Nahrungsmenge zur Zunahme des Körpergewichtes gebracht werden kann. Bei diesen Vorversuchen schied ein großer Teil der Versuchstiere aus. Es stellte sich meistens bald heraus, welche Tiere voraussichtlich die künstlich zusammengesetzte Nahrung aufnehmen würden und welche nicht. Es versagten auch dann noch genug Tiere nach mehr oder weniger langer Zeit die Aufnahme der Nahrung. Manche Versuche konnten noch dadurch gerettet werden, daß die Nahrung in kleinen Portionen künstlich zugeführt wurde, d. h. sie wurde mittels eines Siedestabes möglichst weit in den Rachen hinabgeführt und dabei der Schluckreflex ausgelöst. Glücklicherweise brechen Mäuse und Ratten offenbar nur sehr schwer. Es kam aber vor, daß die Nahrung wieder herausgewürgt wurde. In diesem Fall gingen die Versuche verloren. In einigen Fällen sahen wir uns gezwungen, überhitztes reines Olivenöl in ganz kleinen Mengen der Nahrung zuzufügen, um auf diese Weise die Freßlust der Tiere anzufachen.

Im allgemeinen hatten wir wenig unter Darmkatarrhen zu leiden. Es kam zumeist zur Bildung von festem Kot. Um die Darmperistaltik glatt in Gang zu halten, erhielt ein Teil der Tiere Hornspäne, außerdem stellten wir ihnen Fischbein, das gründlich ausgekocht war, zum Nagen zur Verfügung. Ferner erhielten die Tiere mit der Nahrung sorgsam ausgeglühtes Knochenpulver.

Die Hauptsorge war die Verabreichung der Nahrung. Bei Mäusen von etwa 25 g Gewicht muß darauf geachtet werden, daß die tägliche Menge der Nahrung möglichst 3—4 g nicht überschreitet. Je kompendiöser die Nahrung ist, um so mehr wächst die Wahrscheinlichkeit, daß sie in der vorgeschriebenen Zeit vollständig aufgenommen wird. Bei Ratten von durchschnittlich 200 g Gewicht kann man etwa 15 g Nahrung im Tage zur Aufnahme bringen, jedoch ist es auch hier von größter Bedeutung, daß sie möglichst wenig voluminös ist. Es erwies sich als zweckmäßig, aus den verschiedenen Nahrungsstoffen Pillen zu formen. Es wurde die Nahrung alle 2—3 Stunden gereicht. Der nicht aufgenommene Anteil wurde, sobald das Tier nicht mehr fraß, aus dem Käfig fortgenommen und später wieder angeboten. Sobald der Nahrung etwas Hefe zugesetzt war, erfolgte die Nahrungsaufnahme leichter. Wir haben uns diese Erfahrungen zunutze gemacht und Tiere, bei denen die eigentlichen Versuche mit hefefreien Perioden begannen, zur Gewöhnung an das Futter zunächst ein paar Tage mit dem gleichen Futtergemisch, das sie nachher erhalten sollten, plus Hefe gefüttert.

Versuchsreihe I (Abb. 1 u. 2).

Fütterungsversuche mit Aminosäurengemisch, Glucose, Fettsäuren, Glycerin und Mineralstoffgemisch mit und ohne Zusatz von Hefe.

In einzelnen Fällen (mit α bezeichnet) wurden außerdem noch Purin- und Pyrimidinbasen zugefügt; β bedeutet, daß Cholesterin gegeben wurde.

Versuche an Ratten

Abbildung 1 (S. 218).

Ratte a, (♀, 9 Monate alt), erhielt zunächst 19 Tage lang das erwähnte Nahrungsgemisch (α) ohne Hefe. Das Körpergewicht sank bis zum 11. Versuchstage um 5 g. Die Stickstoffbilanz war in dieser Zeit durchschnittlich = + 12 mg. N. Vom 1. Versuchstage an fiel das Körpergewicht ziemlich rasch ab. Bis zum 19. Versuchstage hatte das Versuchstier 20 g verloren. Besonders Erscheinungen zeigte es nicht, nur ließ der Appetit sehr stark nach. Wir mußten in den letzten 5 Tagen dem Futter eine ganz geringe Menge auf höhere Temperatur erhitztes Fett hinzufügen. Die Stickstoffbilanz war in dieser ganzen Zeit negativ, und zwar im Durchschnitt — 78 mg. Das Versuchstier erhielt dann (a) die gleiche Nahrung weiter, nur wurde 0,1 g Hefe hinzugefügt. Die Nahrung wurde gut aufgenommen. Der Versuch dauerte 19 Tage. Nunmehr erhielt Ratte a 0,1 g Butter. Am 79. Versuchstage mußte der Versuch abgebrochen werden, weil das Tryptophan ausgegangen war. Von Zeit zu Zeit wurde die Stickstoffbilanz geprüft. Sie war mehr oder weniger stark positiv.

Ratte B, (♂, 8 Monate alt), erhielt zunächst 21 Tage lang das erwähnte Nahrungsgemisch (β) ohne Hefe. Das Körpergewicht fiel ständig ab. Es verlor nicht weniger als 58 g. Das Tier hatte vom 3. Tage an die Nahrung nur widerwillig aufgenommen, es mußten verbliebene Reste der Tagesportion zwangsweise zugeführt werden. Die Stickstoffbilanz war ständig negativ. Wir gaben dann (a) 0,1 g Hefe der Nahrung hinzu. Das Körpergewicht stieg sofort an und die Stickstoffbilanz

wurde positiv. Diese Periode dauerte 23 Tage. Nunmehr wurde die Hefe wieder weggelassen (b). Das Körpergewicht fiel nach kurzer Zeit andauernd ab. Am Schluß der 24tägigen Periode hatte man den Eindruck, daß das Tier zugrunde gehen würde, wenn die Ernährung in derselben Weise fortgesetzt würde. Bei Zusatz von Hefe (c) erfolgte wieder Körpergewichtszunahme.

Ratte C, (♀, 9 Monate alt), erhielt 21 Tage lang ausschließlich das obenerwähnte Nahrungsgemisch (α) plus 0,1 g Hefe. Das Tier nahm in dieser Zeit 40 g zu. Als dann (a) die Hefe weggelassen wurde, fiel das Körpergewicht und die vorher positive Stickstoffbilanz wurde negativ.

Abb. 1.

Ratte A (♂, 12 Monate alt) erhielt 39 Tage lang unter Zusatz von 0,1 g Hefe fast Bausteinnahrung. Das Körpergewicht hielt sich während der ganzen Zeit die auf der gleichen Höhe. Das Tier befand sich im Stickstoffgleichgewicht. Nach Weglassen der Hefe (a) fiel zunächst das Körpergewicht ziemlich tief ab, um sich dann wieder 9 Tage lang auf ziemlich derselben Höhe zu halten. Die Stickstoffbilanz war in den ersten 11 Tagen stark negativ (durchschnittlich — 98 mg N). Während der zuletzt erwähnten Periode trat Stickstoffgleichgewicht ein. Auf Hinzufügung von Hefe (b) stieg das Körpergewicht wieder rasch an.

Ratte E, (♀), erhielt 30 Tage lang ausschließlich die obenerwähnte Nahrung ohne Hefezusatz. Das Körpergewicht sank mehr und mehr ab. Zeitweise hielt es

sich auf gleicher Höhe, bzw. es zeigten sich kleine Zunahmen. Vom 26. Tage ab war die Körpergewichtsabnahme eine außerordentlich schnelle. Bis zum 26. Tage hatte das Versuchstier 21 g verloren. Am 30. Versuchstage war es außerordentlich matt. Es zeigte Lichtscheu, verklebte Augen. Es ging in der Nacht vom 30. zum 31. Versuchstage zugrunde.

Ratte F, ♀, wurde 23 Tage lang ohne Hefe ernährt. In dieser Zeit verlor das Versuchstier fast 50% seines Körpergewichts. Nach Zusatz von Hefe (a) stieg das Körpergewicht an. Nach 28 Tagen, Dauer dieser Periode, wurde die Hefe weggelassen. Das Körpergewicht stieg 6 Tage weiter. Es trat dann ein geringfügiger Abfall des Körpergewichtes ein. Leider mußte der Versuch unterbrochen werden weil wichtige Aminosäuren fehlten. Das Versuchstier erhielt dann noch Fleisch an Stelle des Aminosäuregemisches und zeigte nunmehr eine rasche Körpergewichtszunahme.

Ratte G, ♂, erhielt zunächst 30 Tage lang das oben erwähnte Nahrungsgemisch (α) plus 0,1 g Hefe. Das Körpergewicht stieg in dieser Zeit von 50 auf 82 g. Nunmehr wurde (a) die Hefe weggelassen. Das Körpergewicht hielt sich während der 25 Tage umfassenden Periode ziemlich auf der gleichen Höhe. Diese Versuchsperiode ist von allen an wachsenden Ratten ausgeführten als die am besten gelungene zu bezeichnen. Das Versuchstier nahm die Nahrung widerstandslos auf. Das Versuchstier erhielt dann (b) die gleiche Nahrung weiter, nur waren die Fettsäuren weggelassen worden. An ihre Stelle trat die isodyname Menge Glucose. Auch in dieser Periode war nur eine geringe Gewichtsabnahme feststellbar. Sie dürfte wohl kaum auf das Fehlen von Fettsäuren zu beziehen sein. Jedenfalls ist der Versuch nicht entscheidend, weil die Möglichkeit besteht, daß bei der sehr langen Versuchsdauer das Versuchstier auch so etwas an Körpergewicht verloren hätte. Wichtig ist, daß beim Weglassen der Hefe das Wachstum unterblieb.

Die *Ratten E*, *F* und *G* waren 6 Wochen alt.

Versuche an Mäusen.

Abbildung 1 (S. 218).

Maus I, ♀, erhielt 14 Tage lang ausschließlich das Nahrungsgemisch ohne Hefe. Bis zum 11. Tage wurde das Körpergewicht beibehalten, es fiel aber dann ziemlich rasch ab. Die Maus war 3 Monate alt.

Maus II, ♀, erhielt die gleiche Nahrung während 18 Tagen. Das Körpergewicht hielt sich auch hier in den ersten 11 Tagen ziemlich auf der Höhe, um dann abzufallen. Das Tier war 4 Monate alt.

Maus III, ♂, erhielt während 17 Tagen das übliche Nahrungsgemisch ohne Hefe. Das Körpergewicht blieb in den ersten 13 Tagen so gut wie unverändert, um dann etwas abzufallen. Das Versuchstier erhielt dann (a) 0,05 g Hefe. Es trat Zunahme des Körpergewichtes ein, die Versuchsperiode dauerte 24 Tage. Nach Weglassung der Hefe (b) hielt sich das Körpergewicht 4 Tage auf seiner Höhe. Es erfolgte dann ein Zurückgehen des Körpergewichtes. Die ganze Periode dauerte 13 Tage. Es wurde wiederum Hefe gegeben, wieder trat Zunahme des Körpergewichtes auf. Nach 15 tägiger Dauer dieser Periode wurde die Hefe weggelassen (d). Das Körpergewicht fiel wieder. Das Tier war 3 Monate alt.

Maus IV, ♀. Das Versuchstier erhielt das übliche Nahrungsgemisch (β) plus Hefe. Das Körpergewicht stieg von 18 g auf 30 g. Am 21. Versuchstage wurde die Hefe weggelassen, das Körpergewicht fiel fast sofort an zu fallen. Am 33. Versuchstage wog die Maus 19 g. Sie erhielt nunmehr wieder Hefe, das Körpergewicht betrug am 50. Versuchstage 28 g. Nach Weglassung der Hefe ging das Körpergewicht wieder zurück. Das Versuchstier war 2 Monate alt.

Abbildung 2.

Ratte I, ♂, 8 Monate alt, erhielt 27 Tage lang Bausteinnahrung ohne Hefe. Sie behielt bis zum 13. Versuchstage das Anfangskörpergewicht ziemlich bei. Es sank dann allmählich ab. Es folgte nun eine 22 tägige Periode mit Hefe. Während dieser Zeit nahm das Körpergewicht etwas zu. Es schloß sich eine 31 tägige Periode mit der Bausteinnahrung allein an. Vom 68. Versuchstage an fiel dann das Körpergewicht unter gleichzeitigem Auftreten negativer Stickstoffbilanz ab. Es wurde dann wiederum Hefe hinzugegeben, wobei das Körpergewicht langsam anstieg. Die Stickstoffbilanz wurde wieder schwach positiv.

Ratte II, ♀, 8 Monate alt, erhielt zunächst 49 Tage lang Bausteinnahrung plus Hefe. Es folgte dann eine 26 tägige Periode (a) ohne Hefezusatz. Es folgte dann

Abb. 2.

(b) eine Periode, während der 0,1 g Hefe hinzugefügt wurden, die eine Stunde bei 150° erhitzt worden war. Während der ersten Periode war das Körpergewicht von 160 g auf 180 g gestiegen. Während der Periode a—b nahm das Körpergewicht nur wenig ab. Der Versuch war sehr glatt verlaufen, das Tier hatte die Nahrung bis auf wenige Tage freiwillig aufgenommen. Nach Zugabe von erhitzter Hefe fiel das Körpergewicht. Das Tier starb am 98. Versuchstage. Der Absturz des Körpergewichtes ist sicherlich nicht auf die Zugabe der erhitzten Hefe zurückzuführen. Es dürfte nach unseren Erfahrungen der Umstand maßgebend gewesen sein, daß das Versuchstier bereits 25 Tage ohne Hefe ernährt worden war.

Ratte III, ♀, 4 Monate alt, erhielt während 27 Tagen die Bausteinnahrung. Das Körpergewicht fiel während dieser Zeit langsam ab. Es wurde dann (a) auf 100° erhitzte Hefe hinzugegeben. Das Körpergewicht hielt sich während 6 Tagen auf seiner Höhe, um dann ziemlich rasch abzufallen. Nunmehr wurde (b) der Nahrung nichterhitzte Hefe hinzugegeben. Diese Periode dauerte im ganzen

61 Tage. Das Tier zeigte Körpergewichtszunahme, die Stickstoffbilanz war fast durchweg positiv.

Ratte IV, ♂, 9 Monate alt, wurde während 30 Tagen mit Bausteinnahrung ohne Hefe ernährt. Das Körpergewicht fiel von Anfang an langsam und später schneller ab. Die Stickstoffbilanz war in den ersten Tagen negativ (durchschnittlich minus 25 mg). Von da an wurde die negative Bilanz größer (durchschnittlich bis zum 19. Tage 42 mg). Von diesem Zeitpunkt an ging dem stärkeren Sinken des Körpergewichtes parallel eine noch bedeutendere negative Stickstoffbilanz. Sie wurde nur in Stichproben festgestellt. Nunmehr erhielt das Versuchstier Hefe (a). Das Körpergewicht blieb bis zum 40 Versuchstage in gleicher Höhe, um dann ganz erheblich anzusteigen. Es folgte dann eine Periode mit Zugabe von 0,1 g Hefe, die eine Stunde auf 80° erwärmt worden war. Das Körpergewicht blieb längere Zeit auf gleicher Höhe, um dann allmählich abzusinken. Dieser Versuch dauerte 19 Tage. Es wurde dann (c) die Hefe ganz weggelassen. Das Körpergewicht fiel langsam. Am 98. Versuchstage starb das Tier. Es hatte in der letzten Zeit die Nahrung nur noch unter Zwang aufgenommen. Es zeigte Lichtscheu und Haar- ausfall und war recht hinfällig geworden.

Ratte V, ♀, 2 Monate alt, erhielt während 24 Tagen ausschließlich die Bausteinnahrung. Das Körpergewicht fiel bis zu den letzten 3 Versuchstagen nur wenig ab. Bis dahin hatte das Versuchstier die Nahrung freiwillig aufgenommen. In den letzten Tagen war künstliche Fütterung notwendig. Es folgte nun eine 26-tägige Periode (a) mit Hefezusatz. Das Körpergewicht blieb zunächst sich gleich, um dann ziemlich rasch in die Höhe zu steigen. Es wurde dann (b) der Bausteinnahrung Hefe hinzugefügt, die 12 Stunden lang auf 80° erwärmt worden war. Das Körpergewicht blieb auf ziemlich gleicher Höhe. Die Versuchsperiode dauerte 19 Tage. Es schloß sich dann (c) noch eine Periode ohne Hefezugabe an. Das Körpergewicht fiel rasch ab.

Ratte VI, ♂, 2 Monate alt, wurde zunächst mit der Bausteinnahrung plus Hefe ernährt. Das Körpergewicht stieg an. Es folgte dann (a) eine Periode ohne Hefezusatz. Sie umfaßte 31 Tage. Das Körpergewicht hielt sich zunächst 10 Tage ziemlich auf der Höhe, um dann mehr und mehr abzufallen. Vom 44. Versuchstage an konnte das Tier nur mühsam ernährt werden. Es mußte der Nahrung, um sie zur Aufnahme zu bringen, etwas erhitztes Fett zugefügt werden. Schließlich wurde ein Teil der Nahrung zwangsweise verabreicht. Das Versuchstier war am 60. Versuchstage recht matt und würde ohne Zweifel zugrunde gegangen sein, wenn nicht nunmehr der Nahrung (b) Hefe hinzugegeben worden wäre. Das Tier erholte sich und nahm auch an Körpergewicht etwas zu. Diese Versuchsperiode dauerte 21 Tage. Nunmehr wurde (c) die Hefe weggelassen. Das Versuchstier nahm während der 14tägigen Dauer dieser Periode nicht viel an Körpergewicht ab.

Versuchsreihe II.

Untersuchungen über die biologische Wertigkeit der einzelnen Aminosäuren mittels Fütterungsversuchen mit Aminosäurengemisch, Glucose Fettsäure, Glycerin und Mineralstoffgemisch unter Zugabe von Hefe.

Versuche an Ratten.

Abbildung 3 (S. 222).

Ratte I, 3 Monate alt, erhielt während 11 Tagen das Bausteingemisch plus 0,05 g Hefe. Es wurde dann (a) die gleiche Nahrung minus *l-Tryptophan* verabreicht. Der Stickstoffgehalt des weggelassenen Tryptophans wurde durch die entsprechende Stickstoffmenge in Gestalt von Tyrosin ersetzt. Das Körpergewicht

fiel sofort steil ab. Während vorher die Stickstoffbilanz annähernd gleich Null gewesen war, wurde sie jetzt stark negativ. Nach Zusatz von Tryptophan, wobei jene Menge Tyrosin weggelassen wurde, die für diese Aminosäure eingesetzt worden war, erfolgte schon vom 2. Versuchstage ab eine Zunahme des Körpergewichtes. Es wurden dann (c) 0,1 g Butter zu dem Futter hinzugegeben, worauf eine ganz erhebliche Zunahme des Körpergewichtes einsetzte. Nach Weglassung von Tryptophan (d) fiel das Körpergewicht wieder rasch ab.

Ratte II, 4 Monate alt, erhielt 15 Tage lang das Bausteingemisch (α) plus 0,05 g Hefe. Es wurde dann das gesamte Tyrosin und Phenylalanin fortgelassen (a). An Stelle dieser beiden Aminosäuren wurde Tryptophan, entsprechend dem Stickstoffgehalt der beiden homocyclischen Aminosäuren, zur Nahrung hinzugefügt. Das Körpergewicht fiel zuerst langsam und dann schneller ab. Nach Zugabe

Abb. 8.

von Tyrosin (b) unter Verminderung der Tryptophanmenge hielt sich das Körpergewicht zunächst auf gleicher Höhe, um dann etwas anzusteigen. Diese Versuchsperiode dauerte 15 Tage. Nunmehr wurde das Tyrosin (c) weggelassen und dafür Phenylalanin verabreicht. Auch jetzt blieb das Befinden des Tieres gut. Das Körpergewicht nahm sogar etwas zu. Schließlich wurden die beiden Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin (d) der Nahrung zusammen zugesetzt. Das Körpergewicht hielt sich auf annähernd der gleichen Höhe.

Ratte III, 4 Monate alt, erhielt zunächst 14 Tage lang das Bausteingemisch plus 0,05 g Hefe. Nunmehr wurde Cystin aus der Nahrung fortgelassen. Der Stickstoffgehalt dieser Aminosäure wurde durch Serin ersetzt. Das Körpergewicht fiel steil ab. Es wurde nunmehr die Menge der Hefe auf 0,1 g gesteigert (b), ein Erfolg war nicht zu verzeichnen. Nach Zusatz von Cystin (c) stieg das Körpergewicht etwas an. Diese Versuchsperiode dauerte 20 Tage. In dieser Periode war die Hefemenge wieder auf 0,05 g herabgesetzt worden. Schließlich erhielt das Versuchstier die übliche Bausteinnahrung und 0,1 g Hefe. Nunmehr stieg das Körpergewicht ganz erheblich an.

Ratte IV, 4 Monate alt, erhielt das übliche Bausteingemisch plus 0,1 g Hefe. Das Körpergewicht stieg während der 17 Tage umfassenden Periode ganz erheblich an. Nun wurde aus der Nahrung das *Cystin* weggelassen. Es wurde seinem Stickstoffgehalt entsprechend durch Serin ersetzt. Das Körpergewicht fiel. Nunmehr wurde Cystin der Nahrung wieder zugesetzt (c) und gleichzeitig das gesamte Glykokoll und Alanin dem Stickstoffgehalt beider Aminosäuren entsprechend durch Leucin ersetzt. Das Körpergewicht blieb bis zum 14. Versuchstage fast auf gleicher Höhe, um dann allmählich herabzugehen. Wie dieser Abfall des Körpergewichtes zu erklären ist, muß dahin gestellt bleiben, weil das Versuchstier am 44. Versuchstage die Aufnahme der Nahrung verweigerte. Es wurde von da ab zwangsweise gefüttert. Es sträubte sich sehr. Es ließ sich nicht vermeiden, daß die Nahrung nicht vollständig zur Aufnahme kam. Das Versuchstier erhielt dann (d) die doppelte Menge Hefe und gleichzeitig 0,1 g Butter. Das Körpergewicht stieg dann rasch an.

Ratte V, 6 Monate alt, erhielt zunächst 9 Tage lang die Bausteinnahrung (α) plus 0,05 g Hefe. Dann wurde an Stelle von Norleucin und Isoleucin gewöhnliches *Leucin* gegeben, und zwar während 9 Tagen. Das Körpergewicht hielt sich annähernd auf gleicher Höhe. Nunmehr wurde das gesamte Leucin aus der Nahrung fortgelassen und entsprechend der Stickstoffmenge durch Alanin ersetzt. Das Körpergewicht fiel langsam ab. Nach Zusatz von Leucin (c) hielt sich das Körpergewicht annähernd auf gleicher Höhe. Es wurde dann (d) die Menge der Hefe auf die Hälfte reduziert. Das Körpergewicht sank zunächst steil ab, um sich aber dann 7 Tage lang auf annähernd gleicher Höhe zu halten. Nunmehr (e) wurde 0,1 g Butter der Nahrung hinzugefügt. Das Körpergewicht stieg ganz beträchtlich an.

Ratte VI, 2 Monate alt, erhielt während 10 Tagen die Bausteinnahrung plus 0,05 g Hefe. Nunmehr wurde (a) *Cystin* aus der Nahrung fortgelassen und durch Serin ersetzt. Das Körpergewicht fiel ab. Jetzt wurde der Nahrung (b) 0,1 g Cystin hinzugefügt. Das Körpergewicht stieg etwas an. Die Menge des Cystins (c) wurde nunmehr auf 0,5 g gesteigert. Nunmehr zeigte die junge Ratte lebhaftes Wachstum.

Abbildung 4.

Ratte VII, 5 Monate alt, erhielt zunächst 11 Tage lang das übliche Bausteingemisch plus 0,05 g Hefe. Es wurde dann die Gesamtmenge von *Lysin* und *Arginin*

Abb. 4.

ginin (a) aus der Nahrung fortgelassen und dem Stickstoffgehalt entsprechend durch Histidin ersetzt. Das Körpergewicht fiel langsam ab. Nach Zugabe der beiden fortgenommenen Aminosäuren unter Weglassung jener Menge Histidin

die für die erwähnten Aminosäuren gegeben worden war, hielt sich das Körpergewicht auf der gleichen Höhe. Es wurde dann (c) das Lysin weggelassen und seiner Stickstoffmenge entsprechend durch Arginin ersetzt. Das Körpergewicht fiel langsam ab. Es hielt sich wieder (d) auf gleicher Höhe, nachdem Lysin der Nahrung wieder zugegeben worden war. Die Wegnahme von *Arginin* (e) führte auch zu einer Gewichtsabnahme, die wieder aufhörte, nachdem Arginin der Nahrung wieder zugefügt wurde. Es wurde dann (g) Alanin, Glykokoll und Aminobuttersäure aus der Nahrung fortgelassen, und dafür entsprechend der weggenommenen Stickstoffmenge Cystin und Lysin in gleicher Menge zugefügt. Das Körpergewicht stieg ganz erheblich an. Es fiel wieder (h) ab, als das gesamte *Lysin* aus der Nahrung weggelassen wurde. Ein Ersatz des Lysins hatte, entsprechend der Stickstoffmenge, durch gleiche Teile Arginin und Histidin stattgefunden.

Ratte VIII, 8 Monate alt, erhielt zunächst die übliche Bausteinnahrung (α) plus 0,05 g Hefe. Es wurde dann (a) die Hefemenge auf 0,005 g herabgesetzt. Das Körpergewicht fiel nur unbedeutend ab. Nunmehr wurde (b) *Histidin* aus der Nahrung fortgelassen und an seiner Stelle, dem Stickstoffgehalt entsprechend, Arginin gegeben. Das Körpergewicht fiel langsam ab, um sich (c) nach Zusatz von Histidin zur Nahrung annähernd auf gleicher Höhe zu halten. Nun wurde (d) 0,1 g Hefe verabreicht. Das Körpergewicht stieg langsam an.

Ratte IX, 7 Monate alt. Nach einer Periode von 11 Tagen, während der die übliche Bausteinnahrung verabreicht worden war, erhielt das Versuchstier (a) eine Bausteinnahrung plus 0,05 g Hefe, in der die beiden Dicarbonsäuren, *Asparaginsäure* und *Glutaminsäure*, weggelassen und, ihrem Stickstoffgehalt entsprechend, durch Leucin ersetzt worden waren. Das Körpergewicht fiel ab, um nach Zusatz (b) der beiden Dicarbonsäuren sich auf ziemlich der gleichen Höhe zu halten. Es wurde nunmehr die doppelte Menge Hefe gegeben (c). Das Körpergewicht stieg an, um nach Fortlassung der Hefe (d) schließlich rasch abzufallen.

Schließlich sei noch erwähnt, daß eine weitere Reihe von Versuchen im Anschluß an früher mitgeteilte¹⁾ unternommen worden ist, die der Fragestellung des Ersatzes von Aminosäuren durch Abbaustufen von solchen galten. In den bereits bekanntgegebenen Versuchen ließen sich Aminosäuren durch die entsprechenden Ketosäuren + Ammoniak nicht ersetzen. Wir haben nun weiterhin versucht, das Leucin durch die entsprechende aus ihm dargestellte *Oxysäure* zu ersetzen. Der Versuch fiel negativ aus. Ferner wurde versucht, an Stelle von Aminosäuren die zugehörigen *Amine* zu verabreichen. Bei diesen Versuchen ergaben sich Schwierigkeiten, weil bei Zufuhr größerer Mengen von *p-Oxyphenyläthylamin*, *Phenyläthylamin* und *Imidazolyläthylamin* Störungen auftraten. Es scheint aber, daß auch das aus Leucin gewonnene Amin nicht nur nicht für diese Aminosäure eintreten kann, sondern zu Veränderungen des Stoffwechsels führt, denn es gingen die Versuchstiere auffallend frühzeitig zugrunde. Leider genügte das zur Verfügung stehende Material nicht zu genaueren Studien.

Zusammenfassung.

Es gelingt mit den synthetisch dargestellten Bausteinen der zusammengesetzten Nahrungsstoffe, unter Hinzufügung von Mineralstoffen

¹⁾ *Emil Abderhalden*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **96**, 1. 1915.

und Wasser, Mäuse und Ratten einige Zeit im Körper- und Stickstoffgleichgewicht zu erhalten. Es macht sich jedoch bald der Mangel an *Nutraminen* geltend. Durch Zusatz kleiner Mengen von Hefe und auch von anderen Stoffen, wie *Butter*, *Lebertran*, *Rüböl*, *Kleie* usw., läßt sich die Bausteinnahrung viel erfolgreicher durchführen. Die bei reiner Bausteinnahrung auftretenden Verluste an Körpergewicht werden durch Zusatz von ganz geringen Mengen der erwähnten Produkte nicht nur aufgehoben, vielmehr finden Körpergewichtszunahmen statt. Negativ gewesene Stickstoffbilanzen werden positiv. Sobald die nutraminhaltigen Produkte aus der Nahrung fortgelassen werden, fällt nach mehr oder weniger langer Zeit das Körpergewicht wieder ab und es treten Verluste an Stickstoff ein. Genau dieselben Ergebnisse wurden erhalten, wenn an Stelle der synthetisch dargestellten organischen Nahrungsstoffe Bausteine zur Verwendung kamen, die durch Hydrolyse aus zusammengesetzten organischen Nahrungsstoffen gewonnen und auf das sorgfältigste gereinigt worden waren. Auch bei diesen Versuchen ergab sich, daß die bisher bekannten Nahrungsstoffe nicht ausreichen, um den tierischen Organismus auf voller Höhe seiner Funktionen zu halten. Erst durch Zusatz von nutraminhaltigem Material zur Nahrung wird diese vollwertig.

Bei wachsenden Tieren ergab sich, daß die Bausteinnahrung das *Wachstum* nicht unterhalten kann. Erst bei Zusatz von ganz geringen Mengen von Hefe bzw. von Butter usw. kam das Wachstum in Gang.

Es wird gezeigt, daß die Verwendung einer Nahrung, die ausschließlich aus reinen Bausteinen der organischen, zusammengesetzten Nahrungsstoffe plus etwas Hefe besteht, besonders geeignet ist, die biologische Wertigkeit der einzelnen Aminosäuren zu prüfen. Es zeigte sich, daß, wie ja bereits mehrfach festgestellt worden ist, die Aminosäure *l-Tryptophan* unentbehrlich ist. Ihr Fehlen führt zu schweren Störungen. Ebenso unentbehrlich ist offenbar *l-Cystin*. Es kommt ihm ohne Zweifel bei wachsenden Tieren noch eine besondere Bedeutung für das Wachstum zu. Die beiden aromatischen Aminosäuren *l-Tyrosin* und *l-Phenylalanin* können sich nach unseren Erfahrungen gegenseitig ersetzen. Fehlen beide Aminosäuren in der Nahrung, dann macht sich das im Verhalten des Körpergewichtes und der Stickstoffbilanz geltend. Es können offenbar die beiden homocyclischen Aminosäuren wohl einzeln, aber nicht insgesamt entbehrt werden. Auch *Lysin* und *Arginin* sind offenbar nicht ersetzbar. Das gleiche gilt vom *Histidin*. Es scheint dagegen, als ob *Norleucin* und *Isoleucin* ersetzbar sind, wenn das gewöhnliche *Leucin* = α -Aminoisobutylelessigsäure an ihrer Stelle zugeführt wird. Das Fehlen der gesamten Monoaminosäuren der Sechskohlenstoffreihe machte sich dagegen in einem Abfallen des Körpergewichtes bemerkbar. *Asparagin*- und *Glutaminsäure* sind offen-

bar auch nicht ersetzbar, denn es fiel das Körpergewicht beim Fehlen dieser Dicarbonsäuren ab. Es scheint dagegen, daß *Glykokoll*, *Alanin* und ferner *Oxyglutaminsäure* ersetzbar sind. Wir sagen ausdrücklich „scheint“, weil immerhin die Möglichkeit besteht, daß bei Versuchen, die sich über eine noch längere Zeit erstrecken, als wir die Beobachtung ausdehnen konnten, sich doch noch Erscheinungen zeigen könnten, die mit dem Fehlen der genannten Aminosäuren in Verbindung stehen. Bei den erwähnten drei Aminosäuren kann man sich allerdings einen Ersatz leicht vorstellen. Vom Glykokoll wissen wir ganz bestimmt, daß es neu gebildet werden kann. Man wird immer nur dann von einer besonderen Bedeutung eines Eiweißbausteines sprechen können, wenn sein Fehlen in der Nahrung Störungen verursacht, die sich durch Hinzufügen des fehlenden Bausteines beheben lassen.

Das Fehlen der *Purin-* und *Pyrimidinbasen* und von *Cholesterin* in der Nahrung machte sich nicht bemerkbar. Es kann dies zum Teil daran gelegen haben, daß die Beobachtungszeiten zu kurz waren. Erst langfristige, Monate umfassende Versuche vermöchten wohl über die Bedeutung der einzelnen Bausteine der Nukleinsäuren für den Zellstoffwechsel Auskunft zu geben. Ebenso darf nicht aus unseren Versuchen ohne weiteres auf die Entbehrlichkeit des Cholesterins geschlossen werden.

Hervorgehoben sei noch, das Ratten und Mäuse, die bei Fortlassung von *Cystin* aus der Nahrung unter Erscheinungen alimentärer Dystrophie zugrunde gegangen waren, in ihren Geweben und insbesondere in der Leber und den Muskeln nur eine ganz auffallend schwache *Cysteinreaktion* mit Nitroprussidnatrium und Ammoniak bzw. *Cyankalium* gaben. Die Anwendung von Cyankalium macht die Reaktion besonders empfindlich und haltbarer. Der Befund der Herabsetzung des Cysteingehaltes von Zellen ist in Hinsicht auf den Befund¹⁾ eines bei den Zelloxydationsvorgängen offenbar eine ausschlaggebende Rolle spielenden, aus Cystein und Glutaminsäure bestehenden Körpers, besonders bedeutungsvoll. Bei Mangel an *Cystin* in der Nahrung leidet offenbar die Bildung der genannten Substanz und dadurch wird auch die Zellatmung in Mitleidenschaft gezogen.

¹⁾ F. G. Hopkins: The biochem. J. **15**. 286. 1921.