

Ueber die Verdaulichkeit des Nucleins und Lecithins

von A. Bókay aus Budapest.

(Aus Prof. Hoppe-Seylers physiol.-chem. Laboratorium in Strassburg).

(Der Redaction zugegangen am 26. Mai 1877.)

Ueber das Verhalten der phosphorhaltigen gewebebildenden Substanzen gegen die sogenannten Verdauungsfermente wissen wir äusserst wenig, obwohl die beiden phosphorreichen Körper, die wir als solche bisher kennen, fast constante Bestandtheile der Nahrungsstoffe bilden und daher der Nährwerth der Nahrungsmittel ohne Kenntnisse derselben nie genügend bestimmbar ist. In den nachfolgenden Zeilen theile ich einige Untersuchungen mit, die ich in dieser Richtung ausgeführt habe.

I. Die Verdaulichkeit des Nucleins.

Ueber die Verdaulichkeit des Nucleins ist uns bisher nur so viel bekannt, dass der Magensaft respect. das Pepsin keine oder nur eine sehr geringe Wirkung auf die Substanz ausübt.⁽¹⁾

Kühne und Ewald⁽²⁾ publicirten vor Kurzem einige Daten über das Verhalten des Nucleins gegen Trypsin, diese Arbeit ist aber rein histologischen Characters und kann daher zur Entscheidung über das chemische Verhalten nicht führen.

Meine Versuche beziehen sich hauptsächlich auf das Verhalten des Nucleins gegen das eiweissverdauende Ferment des Pankreas, da andere Fermente gar nicht in Betracht kommen können. Zu meinen Versuchen benützte ich möglichst gereinigtes, aus Eiter dargestelltes Nuclein. Den Eiter brachte ich mit einer Lösung von schwefelsauren Natron zusammen, welche auf 10 Theile gesättigte Lösung 90 Theile Wasser

⁽¹⁾ Miescher. Ueber die chemische Zusammensetzung der Eiterzellen. Hoppe-Seyler. Medic. chem. Untersuchungen. S. 441.

⁽²⁾ Ewald und Kühne. Die Verdauung als histologische Methode. Verhandlungen des naturh.-med. Vereins zu Heidelberg. 1877 S. 451.

enthielt. Bei solcher Behandlung setzen sich, wie Miescher angegeben hat, die Eiterkörperchen in einigen Stunden ab, und die darüber stehende Flüssigkeit kann abgegossen und so lange erneuert werden, bis der Absatz durch dies Waschen seine röthliche Färbung verliert. Das zu schleimigen Brei gewordene Eiterkörperchen-Conglomerat extrahirte ich mit heissem Alkohol mehrmals, wusch den Rückstand mit Wasser tüchtig aus und brachte ihn mit stark wirkendem künstlichen Magensaft zusammen, welcher 2 pro mille Salzsäure enthielt, und liess ihn der Pepsin-Verdauung 30—40 Stunden lang bei 40° C. ausgesetzt. Durch diesen Vorgang wurden die Zellkerne von der sie umgebenden Protoplasma-Hülle befreit, da dies Letztere durch das Pepsin völlig gelöst wurde. Das Filtriren der Kerne konnte ohne besondere Schwierigkeit geschehen. Die Kerne wurden gut ausgewaschen, in verdünnter Natronlauge gelöst, rasch filtrirt und mit verd. Salzsäure gefällt; der Niederschlag war das Nuclein, das ich benutzte. Mit der Behandlung mit Natronlauge muss man bei dieser Darstellung möglichst schnell verfahren, da das Nuclein darin sich sehr leicht zersetzt, so dass man nach der Uebersättigung der Flüssigkeit mit Salzsäure keinen Niederschlag mehr erhält. Das Nuclein wird auf dem Filter so lange gewaschen, bis die ablaufenden Tropfen nicht mehr sauer reagiren. Das so gewonnene Nuclein war genügend rein, abgesehen von schwacher Pepton-Reaction; die Verunreinigung des Nucleins durch Peptone ist aber so schwer zu vermeiden, dass Miescher die genannte Reaction in seiner ersten diesbezüglichen Arbeit als characteristisch für das Nuclein erwähnte.

Die so erhaltenen ziemlich grossen Quantitäten von Nuclein brachte ich mit Trypsin-Lösung zusammen, die ich aus Rindspankreas durch Zerreiben mit Alkohol, Auspressen nach 10 Stunden in einem Leinwandstück, mässigem Trocknen und Extraction mit Wasser erhielt. Um mich vor etwaigen Täuschungen zu bewahren, untersuchte ich meine Fermentlösung auf Phosphorsäuregehalt, erhielt aber immer negatives Resultat.

Das Nuclein wurde in solcher Fermentlösung gut zertheilt und erst 5, dann immer höher steigend 24, auch noch mehr Stunden lang im Brütöfen bei 40° C. gehalten. Die Gefässe waren gut verschlossen; um die möglicherweise frei werdende Phosphorsäure zu binden, fügte ich zur Flüssigkeit kohlsauren Kalk in kleinen Quantitäten hinzu. Ein anderes Mal mischte ich nach Heidenhains Vorschrift⁽¹⁾ kohlsaures Natron hinzu bis zu 1% Gehalt der Flüssigkeit. Nach Heidenhain soll durch diesen Zusatz die Wirkung des Pankreasferments bedeutend beschleunigt werden.

Alle diese Versuche gaben ein negatives Resultat. — Die Methode, nach welcher ich die Flüssigkeiten nach dem Verdauungsexperiment analysirte, war die folgende: Nach Verlauf der festgestellten Verdauungszeit wurden einige Tropfen vom Verdauungsgemisch abdestillirt, um die Anwesenheit des Ammoniaks und Indols zu constatiren. Ammoniak fand ich immer, Indol aber nur dann, wenn ich die Flüssigkeit längere Zeit im Brütöfen stehen liess. Jetzt behandelte ich das Ganze mit verdünnter Salzsäure oder Alkohol, worauf sich ein reichlicher Niederschlag abschied, der sich bei der Untersuchung als unverändertes Nuclein erwies. Das Filtrat dunstete ich zum dicken Syrup ein — der hauptsächlich aus Tyrosin und Leucin bestand, — und nach der Veraschung mit Soda und Salpeter molybdänsaures Ammoniak keine Phosphorsäurereaction erkennen liess. Das gefundene Ammoniak, Indol, Tyrosin, Leucin können also nicht etwa durch die Spaltung des Nucleins entstanden sein, sondern müssen theils aus den verunreinigenden Eiweiss-substanzen, welche von dem Nuclein sowie vom Pankreasferment nicht leicht entfernt werden können, herrühren. Die Richtigkeit dieser Erklärung bezeugt auch der Umstand, dass Trypsinlösung einige Stunden bei Körpertemperatur gehalten eben diese Zersetzungsproducte liefert.

⁽¹⁾ Heidenhain, Beiträge zur Kenntniss des Pankreas. Archiv für d. g. Physiologie, Bd. X.

Ob aber das Nuclein trotz den negativen Resultaten der künstlichen Verdauungsversuche vielleicht durch andere, noch unbekannte Prozesse durch den Darmkanal aufgenommen oder unverändert ausgeschieden wird, suchte ich durch Fütterungsversuche fest zu stellen. Zu diesem Zwecke hielt ich einen Hund längere Zeit im Käfig eingeschlossen, richtete seine Diät dem Ziele der Untersuchungen gemäss ein und sammelte sorgfältig Urin und Fäcalstoffe zur weiteren Analyse.

Bei der Analyse der Fäcalmaterien suchte ich die Anwesenheit des Nucleins bestimmt nachzuweisen und zwar mit sehr entschiedenem Erfolg. Der Gang der Untersuchung, den ich einschlug, war folgender: Sämmtliches Material wurde erst mit reichlichen Quantitäten Weingeist, dann mit Aether zusammengerieben und circa 24 Stunden stehen gelassen; den Rückstand behandelte ich mit einer Mischung von gleichen Quantitäten starken Alkohol und Aether und 20—30 cc. verd. Salzsäure. Durch alle diese Extractionen entfernte ich die Farbstoffe, Fette, Fettsäuren, Gallensäuren, Cholesterin und ebenso auch das vielleicht anwesende Lecithin⁽¹⁾. Den so gewonnenen Rückstand setzte ich lange der Maceration mit Salzsäure aus, um die in den Fäcalstoffen anwesenden phosphorsauren Salze zu eliminiren; mit eben dieser Säure wusch ich die Masse so lange, bis kleine Quantitäten der von dem Filter ablaufenden Flüssigkeit mit Soda und Salpeter verascht nicht die mindesten Spuren von Phosphorsäure mehr zeigten. Hiernach suchte ich durch Behandlung mit destillirtem Wasser die Säure zu entfernen. Nach allen diesen Manipulationen trocknete ich die Materie, zerrieb sie mit reiner Soda und Salpeter, veraschte und bestimmte den Phosphorsäuregehalt in Form von pyrophosphorsaurer

(¹) Lecithin hat man in den Fäcalstoffen überhaupt noch nicht gefunden, wenigstens findet sich in der Literatur keine entgegenstehende Angabe; H. Wegscheider erwähnt in seiner Arbeit «Ueber die normale Verdauung bei Säuglingen», Inaug.-Diss., Strassburg, 1875, dass er in den Faeces von Säuglingen Lecithin, «wenn überhaupt, nur in ganz unbedeutenden Spuren nachweisen konnte.»

Magnesia. Ich halte es für nothwendig zu bemerken, dass die Asche weder Kalk, noch Eisen enthielt, die erhaltene Phosphorsäure, also sich in organischer in HCl unlöslicher Verbindung befunden haben musste. Dass ich durch diese Methode den Phosphorsäuregehalt der ganzen Nucleinmenge der Fäcalstoffe bestimmte, geht daraus hervor, dass die erwähnten Extractionsflüssigkeiten ganz neutral gegen das Nuclein sich verhalten; das Letztere löst sich weder, noch erleidet es durch sie irgend welche Veränderung in der chemischen Constitution. Um zu zeigen, wie bedeutend der Nucleingehalt der Fäcalstoffe bei verschiedenen Fütterungsweisen sein kann, stelle ich Zahlen hier zusammen, die ich in den einzelnen Versuchen an Hunden erhalten habe:

| Versuchs-Nro. | Nahrungsmittel, die dem Thiere vorher gegeben worden sind. | Phosphorsäure-Menge. |
|---------------|--|----------------------|
| I. | 2 Tage, täglich $\frac{1}{2}$ Kilogr. Fleisch, den dritten Tag 7 Eidotter. | 0,8355 Gramm. |
| II. | 8 Tage, täglich 7 Eidotter. | 1,8023 „ |
| III. | 2 Tage, täglich $\frac{1}{2}$ Kilogr. Fleisch und 7 Eidotter. | 1,0134 „ |
| IV. | 1 Tag schwarzes Brod und Waizenkleie-Brei | 0,9123 „ |
| V. | 2 Tage schwarzes Brod und Waizenkleie-Brei | 1,3507 „ |

Diese hohen Werthe, die ich hier erhalten habe, zeigen, dass nicht ein Zufall im Spiele war, sondern dass wir einer Thatsache gegenüber stehen, die schon oben hervorgehoben ist und die durch diese Zahlen unzweifelhaft bestätigt wird; so können wir ohne Rückhalt den Satz aussprechen, dass wenigstens ein grosser Theil des in den Darmkanal eingeführten Nucleins, nicht in den Organismus aufgenommen wird. Diese Daten machen uns ferner aufmerksam, dass nicht nur die bisher als nucleinhaltig bekannten Nahrungsmittel ihre Beiträge zu dem Nucleingehalt der Fäcalstoffe abgeben, sondern auch das Fleisch, wie wir durch Vergleichung der Zahlen schliessen müssen; ja

ich möchte behaupten, dass fast alle animalisch und vegetabilische Nahrungsmittel⁽¹⁾ nucleinhaltig sind, — und daher das Nuclein ein regelmässiger Bestandtheil der Darmexcremente ist von Menschen so wie von Fleisch- und Pflanzenfressern.

Diese Thatsache ist bisher unbeachtet geblieben und wird bei späteren Bestimmungen des Nährwerthes der Nahrungsmittel sorgfältig beachtet werden müssen, besonders bei den Stoffwechselfersuchen, in denen der Stickstoffgehalt des Nuclein bis jetzt fälschlich als Eiweissstoff in Rechnung gestellt ist.

Zum Schlusse muss ich noch der Urinuntersuchungen kurz Erwähnung thun, die während der Fütterungsversuche angestellt worden sind. Meine Aufgabe war hier zugleich die Verhältnisse der Quantität der Phosphorsäure im Urin zu verfolgen. Zu diesem Zwecke bestimmte ich am Anfang meiner Untersuchungen die durchschnittliche Quantität der Phosphorsäure im Urin des Hundes bei bestimmter Diät; dann fügte ich zur täglichen Fleischnahrung 7 Eidotter, fand aber nie eine bedeutendere Phosphorsäurezunahme; dasselbe beobachtete ich bei der Zugabe von schwarzem Brod und Waizenkleibrei. Die minimale Zunahme der Phosphorsäure im Harne bei der erwähnten Eidotterzuthat kann aus der Fäulniss des Nucleins herrühren, ich halte jedoch aus Gründen, die später ausgeführt werden, es für viel wahrscheinlicher, dass dieselbe von dem Lecithin der Eidotter her stammt.

II. Die Verdaulichkeit des Lecithins.

Das Lecithin wird durch das Pepsin nicht schnell angegriffen, ebenso wie das Nuclein; länger in der sauren Flüssigkeit gehalten sah ich Zersetzung eintreten, dies ist aber offenbar der Wirkung der Magensäure zuzuschreiben.

(1) Ueber den Nucleingehalt der Pflanzen habe ich einige Untersuchungen eben unternommen; ich behalte mir vor, über dieselben Näheres mitzutheilen.

Säuren zersetzen bekanntlich das Lecithin. Das Verhältniss des eben genannten Stoffes gegen Trypsin ist von dem des Nucleins verschieden, aber nur allmählig sieht man Spaltung der Substanz eintreten, wenn sie 8—10 Stunden lang im Brütöfen gelassen wird; Fäulniss ist also nicht ausgeschlossen. Nach diesen negativen Resultaten lag es am nächsten, das Fette zerlegende Ferment der Bauchspeicheldrüse in den Kreis der Untersuchungen zu ziehen, da das Lecithin nach seiner chemischen Constitution betrachtet, den Fetten sehr nahe steht und möglicherweise «eine Stufe zur Bildung der letzteren» sein kann, wie Prof. Hoppe-Seyler in seiner «Allgem. Biologie» bemerkt.

In der Lösung dieses Fette zerlegenden Fermentes zersetzt sich das Lecithin in kürzester Zeit. Die Untersuchung der Flüssigkeit geschah folgendermassen: Der Verdauungsprocess wurde durch Zufügen von verdünntem Alkohol aufgehoben, das ganze bei 60° C. verdampft, der Rückstand mit Alkohol, dann mit Aether und endlich mit Wasser ausgezogen. Alkohol und Aether lösten das Lecithin, während das Wasser das glycerinphosphorsaure Salz aufnimmt; zu bemerken ist, dass zur Verdauungsflüssigkeit immer eine gewisse Quantität kohlensauren Kalkes hinzugefügt wurde, um die frei werdende Glycerinphosphorsäure zu binden. Das Resultat, welches ich nach dieser Behandlung erhielt, war, dass der Alkohol, sowie der Aetherauszug entweder keine, oder nur sehr geringe Phosphorsäuremengen enthielten, während der Wasserauszug immer reich an Phosphorsäure gefunden wurde, was jedenfalls von der Anwesenheit des glycerinphosphorsauren Salzes herrührte.

Aus dem Angeführten können wir den sicheren Schluss ziehen, dass das Lecithin durch des Fettferment des Pankreas verdaut, besser gesagt, gespalten wird, und zwar in Glycerinphosphorsäure, Neurin und fette Säuren.

Dass das Lecithin oder seine Spaltungsprodukte wirklich in den Organismus aufgenommen werden, beweisen die

negativen Resultate, die ich bei der Untersuchung der Fäcalstoffe — übereinstimmend mit Wegscheider — erhalten habe. Ich suchte im Alkohol- und Aetherauszuge Phosphorsäure nachzuweisen, fand aber nicht einmal Spuren davon; ebenso verhielt es sich mit dem Wasserauszuge der Fäces, in dem ich vergebens nach Glycerinphosphorsäure suchte. Bekräftigend für den oben angeführten Schluss sind die Urinuntersuchungen, die bei einem Hunde während verschiedener Fütterungsweise bezüglich der Phosphorsäure von mir ausgeführt wurden. Ich liess das Thier 6 Tage bei alleiniger Verabreichung von Wasser fasten, bestimmte Tag für Tag den Phosphorsäuregehalt und fand, dass er fast constant 0,289 Gramm auf 24 Stunden ausmachte. (Bei regelmässiger Ernährung erhielt ich im Durchschnitt 1,345 Gramm). Hierauf gab ich ihm während 8 Tage täglich 7 Eidotter, — die bekanntlich reich an Lecithin sind — mit Ausschluss aller anderen Nahrung. Die täglichen Aufzeichnungen weisen eine constante, wenn auch geringe aber ziemlich gleichmässige Zunahme der Phosphorsäureausscheidung auf.

Die Resultate, die aus meinen Versuchen hervorgehen, können kurz folgendermassen formulirt werden:

1. Das Nuclein wird durch keines der Verdauungsfermente angegriffen und ist höchst wahrscheinlich als ein constant Bestandtheil der Fäcalmaterien zu betrachten, da die meisten Nahrungsmittel Nuclein enthalten;
2. Das Lecithin wird durch das Fette zerlegende Ferment des Pankreas oder Fäulnissferment im Darne in Glycerinphosphorsäure, Neurin und fette Säure gespalten; diese Zersetzungsprodukte werden wenigstens theilweise (wahrscheinlich in Form von Salzen) durch den Darmkanal resorbirt, denn nach lecithinreicher Nahrung steigt die Phosphorsäureausscheidung im Urin, in den Fäcalstoffen sind aber nicht die mindesten Spuren des Lecithins oder der Glycerinphosphorsäure zu finden.

Strassburg, 2. Mai 1877.