

Beiträge zur Kenntniss der Umwandlung von Eiweissstoffen durch Pancreasferment.

Von

Jac. G. Otto (aus Christiania).

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg i. E.)
(Der Redaktion zugegangen am 2. Oktober 1883).

Das Characteristische bei der Peptonisation der Eiweissstoffe durch Trypsin besteht bekanntlich darin, dass diese zunächst in eine Globulinsubstanz, dann in Pepton übergeführt werden. Durch das Zwischenglied, Globulin, unterscheidet sich also der genannte Prozess scharf von der Pepsinverdauung, wo Acidalbumin das erste Umwandlungsprodukt ist; ob weitere Unterschiede in den erhaltenen Endprodukten, den Peptonen, existiren, ist meines Wissens nicht endgültig festgestellt. Zwar finden sich einige Angaben darüber in der Literatur, worauf ich später zurückkommen werde; diese sind aber so abweichend und unbestimmt, dass eine Untersuchung der bei der Einwirkung des Trypsin auf die Eiweisskörper gebildeten Produkte eine Aufgabe ist, deren zweckmässige Lösung von nicht geringer Wichtigkeit erscheint. Ich habe deshalb auf Veranlassung des Herrn Professor Hoppe-Seyler eine solche Untersuchung vorgenommen, deren Resultat im Folgenden mitgetheilt werden wird.

Meine Aufgabe bestand zunächst darin, die verschiedenen bei der Trypsinwirkung gebildeten eiweiss- und peptonartigen Körper in möglichst reinem Zustande zu isoliren und näher zu studiren. Es musste mir desshalb besonders obliegen, die Fäulniss zu verhindern, so dass die normale Verdauung nicht durch gleichzeitige Fäulnissprozesse modificirt wurde, welches bei der grossen Fäulnissfähigkeit des Pancreas sehr

leicht geschieht. Als fäulniswidriges Mittel habe ich auf Vorschlag des Herrn Prof. Hoppe-Seyler Aether benutzt und immer controlirt, ob wesentliche Mengen von den bekannten Fäulnisprodukten Hydroparacumarsäure und Indol gebildet worden waren. Dies war in keinem der unten mitgetheilten Versuche der Fall. Zwar habe ich bei den lang fortgesetzten Verdauungen zuweilen äusserst kleine Quantitäten Hydroparacumarsäure, niemals aber Bacterien oder Indol nachweisen können, und auch Hydroparacumarsäure nur in den Versuchen über die Antipeptonbildung.

Als Versuchsmaterial benutzte ich ausschliesslich ausgewaschenes Blutfibrin und als Verdauungsflüssigkeit einen wässerigen Auszug von Rindspancreas. Das Fibrin wurde nach dem Auswaschen einigermassen getrocknet, fein zerhackt und mit der Pancreasflüssigkeit in einem grossen Kolben zu einem dicken Brei zusammengerührt. Dann setzte ich so viel Aether hinzu, dass die Mischung deutlich darnach roch und liess das Ganze nach dem Verschliessen des Kolbens unter häufigem Umschütteln so lange bei gewöhnlicher Temperatur stehen, bis alles Fibrin gelöst war.

Die untersuchten Produkte waren:

- 1) Globulinsubstanz,
- 2) Propepton,
- 3) Pepton, und
- 4) Antipepton.

I.

Die Globulinsubstanz.

Nachdem eine Probe von der erhaltenen verdauten Flüssigkeit zur Untersuchung auf gebildete Fäulnisprodukte in bekannter Weise¹⁾ verwendet worden war, wurde der Rest auf Globulinsubstanz verarbeitet. Dies geschah durch Sättigung der filtrirten Flüssigkeit mit Magnesiumsulfat, Mischung der Masse mit einer gesättigten Lösung dieses Salzes, Filtration des Niederschlages und Auswaschen mit der gesättigten Magnesiumsulfatlösung. Endlich wurde die Fällung

¹⁾ Vergl. Buhnow: Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd.VII, S. 328-329.

mittelt einer kleinen Quantität Wasser gelöst und durch Zusatz von einer grossen Menge Wasser und längeres Durchleiten von Kohlensäure wieder gefällt, durch Decantation mit Wasser von der grösseren Salzmenge befreit, filtrirt, endlich mit Wasser und Alkohol völlig ausgewaschen und schnell im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet. In der Weise dargestellt, bildet die Globulinsubstanz ein schwach gelbliches Pulver, dessen sämtliche Reactionen denen des Serumglobulin völlig gleich sind

Die Coagulationstemperatur in verdünnter Kochsalzlösung betrug $70-75^{\circ}$ und stimmte somit auch mit der des Serumglobulins nahe überein (75° nach Weyl, $69-76^{\circ}$ nach Hammarsten). Die verschiedenen von mir dargestellten Präparate von oben genannter Globulinsubstanz enthielten $0,55-0,73\%$ Asche, berechnet auf den bei 110° C. getrockneten Körper. Die Elementaranalyse wurde ebenfalls mit bei 110° getrockneten Präparaten vorgenommen und hinsichtlich der einzelnen Bestimmungen ist zu bemerken:

1. Die Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung wurde durch Verbrennung mit Kupferoxyd in einem beiderseitig offenen Rohr mit vorgelegter Kupferspirale und unter Durchleitung von Sauerstoff ausgeführt.
2. Die Stickstoffbestimmungen geschahen mit Hilfe der von Kossel¹⁾ eingeführten Modifikation der Dumas'schen Methode, und
3. Die Schwefelbestimmungen durch Schmelzen mit Aetzkali, Soda und Salpeter und Wägung des Schwefels als Baryumsulfat.

Die näheren Daten sind:

1. Präparat.

Angewandte Substanz	0,2385 gr.
Gefundene Kohlensäure	0,4642 "
Gefundenes Wasser	0,1552 "
Angewandte Substanz	0,1972 "
Gefundener Stickstoff	0,03094 "
Angewandte Substanz	1,2222 "
Gefundenes Baryumsulfat	0,1041 "

¹⁾ Hoppe-Seyler: Handbuch der physiologischen und pathologisch-chemischen Analyse, 5. Aufl., S. 358.

2. Präparat.

Angewandte Substanz . . .	0,2112 gr.
Gefundene Kohlensäure . . .	0,4125 «
Gefundenes Wasser . . .	0,1397 «
Angewandte Substanz . . .	0,3077 «
Gefundener Stickstoff . . .	0,04896 «

Aus den Analysen ergibt sich die folgende procentische Zusammensetzung:

	1.	2.	Mittel
Kohlenstoff.	53,08 %	53,27 %	53,17 %
Wasserstoff.	7,23 «	7,35 «	7,29 «
Stickstoff .	15,69 «	15,91 «	15,80 «
Schwefel .	1,17 «	—	1,17 «

Hammarsten¹⁾ fand im Mittel für Serumglobulin (aus Pferdeblutserum) C = 52,71%, H = 7,01%, N = 15,85%, S = 1,11%; seine einzelnen Bestimmungen aber zeigen nicht geringen Abweichungen vom Mittel, so dass ein zu grosses Gewicht auf den Unterschied zwischen dem gefundenen Kohlenstoffgehalt des Serumglobulins und des Verdauungsglobulins nicht gelegt werden darf. Auch gebe ich gerne zu, dass die Zahl meiner Analysen eine zu geringe ist, um einen genauen Werth für die Zusammensetzung der Globulinsubstanz zu erhalten. Die Darstellung desselben in grösseren Quantitäten ist aber mit so grossen Schwierigkeiten verknüpft, dass ich mich wenigstens vorläufig mit den obengeannten Analysen begnügen musste, und so viel ist jedenfalls daraus ersichtlich, dass eine nahe Verwandtschaft zwischen den zwei Globulinen existirt.

Um noch weitere Gesichtspunkte für die Beurtheilung der Natur des Verdauungsglobulins zu gewinnen, habe ich auch die specifische Drehung desselben in verdünnter Kochsalzlösung (10%) für Natriumlicht bestimmt. Die Bestimmung geschah mittelst eines vorzüglichen Halbschattenapparates nach Lippich²⁾ in einem 200 mm-Rohr und bei 20° C. Die

¹⁾ Archiv für die gesammte Physiologie, Bd. 22, S. 409.

²⁾ Beschrieben in Hoppe-Seyler's Handbuch der physiologischen und pathologisch-chemischen Analyse, 5. Aufl., S. 39.

folgende Tabelle enthält in der ersten Colonne den Gehalt an Globulin in 1 Cc.-Lösung, in der zweiten den abgelesenen Winkel und in der dritten die nach der Formel

$$(\alpha)_D = - \frac{\alpha}{p \cdot l.}$$

berechnete spezifische Drehung:

Conc.	Abgel.Winkel	Sp. Drehung
0.0552 gr.	5.308 "	48.08
0.0665	6.400	— 48.12
0.0453	4.355	— 48.07

Im Mittel

$$(\alpha)_D = - 48.107.$$

Fredericy fand die spezifische Drehung für Serumglobulin aus verschiedenen Blutarten 47,8, also sehr nahe mit den in meinen Bestimmungen erhaltenen Zahlen übereinstimmend.

Fasst man nun das ganze Verhalten des Verdauungsglobulins, sowohl in chemischer und physikalischer, wie in qualitativer und quantitativer Beziehung zusammen, zeigt es eine so ausgesprochene Aehnlichkeit mit dem Serumglobulin, dass man mit grosser Wahrscheinlichkeit die beiden Stoffe als identisch ansehen darf.

II.

Das Propepton

Bei der Magenverdauung bilden sich bekanntlich als Zwischenprodukt ziemlich bedeutende Mengen sogenannten Propeptons, theils in neutraler, theils in saurer Flüssigkeit durch hineingestellte Steinsalzstücke fällbar.

Es war nun von Interesse zu untersuchen, ob sich auch bei der Trypsinwirkung ähnliche Produkte bilden, da sich bis jetzt die diesbezüglichen Angaben darauf beschränken, dass keine wesentlichen Mengen davon entstehen.

Um diese Frage zu entscheiden, wurden in die neutrale von Globulinsubstanz völlig befreite Flüssigkeit Steinsalzstücke hineingestellt und das Ganze über Nacht stehen ge-

lassen. Es zeigte sich dann, dass dadurch niemals ein Niederschlag entstand, dass durch die Trypsinwirkung also kein aus neutraler Flüssigkeit, durch Steinsalz fällbares Propepton gebildet wird. Durch Zusatz von Salzsäure zu der mit Kochsalz gesättigten Flüssigkeit entstand dagegen ein zäher, weisser Niederschlag, der die bekannten Reaktionen des Propeptons zeigte und selbstverständlich viel Kochsalz enthielt. Der Niederschlag wurde abfiltrirt, abgepresst, in wenig Wasser gelöst, mit Alkohol gefällt, wieder in Wasser gelöst, nochmals mit Alkohol gefällt, abfiltrirt und schliesslich mit absolutem Alkohol so lange gewaschen, bis die Waschflüssigkeit keine Chlorreaktion mehr zeigte. Das noch feuchte Präparat wurde endlich schnell im Vacuum über concentrirter Schwefelsäure getrocknet und bildete dann ein zartes, ziemlich weisses Pulver mit einem Aschengehalt von 0,15—0,43%, welches erstere sich in Wasser zu einer klaren Flüssigkeit leicht löste und die charakteristischen Reaktionen des Propeptons¹⁾ in ausgezeichneter Weise gab. Die Ausbeute ist aber sehr gering, so dass es mehrerer Darstellungen bedurfte, um eine für die Analyse ausreichende Menge zu erhalten.

Die Elementaranalyse des bei 110° C. getrockneten Präparates ergab:

1. Präparat.

Angewandte Substanz . . .	0.2004 gr.
Gefundene Kohlensäure . . .	0.3712 «
Gefundenes Wasser . . .	0.1241 «
Angewandte Substanz . . .	0.3343 «
Gefundener Stickstoff . . .	0.05643 «

2. Präparat.

Angewandte Substanz . . .	0.1811 gr.
Gefundene Kohlensäure . . .	0.3565 «
Gefundenes Wasser . . .	0.1187 «
Angewandte Substanz . . .	0.2325 «
Gefundener Stickstoff . . .	0.03934 «

Nach den Analysen berechnet sich die procentische Zusammensetzung des Propeptons:

¹⁾ Fällbarkeit durch Salpetersäure in der Kälte, nicht bei 100° und durch Essigsäure und Ferrocyankalium.

	1.	2.	Mittel.
Kohlenstoff .	50,52 %	50,68 %	50,60 %
Wasserstoff .	6,88 «	6,67 «	6,77 «
Stickstoff . .	16,88 «	16,92 «	16,90 «

Mehrere Analysen speciell auch Schwefelbestimmungen wären freilich hier sehr wünschenswerth gewesen; allein bei dem schwer zu beschaffenden Material dürften auch die ausgeführten wenigen Analysen nicht unwichtig sein. Jedenfalls ist so viel durch die vorliegende Untersuchung festgestellt, dass auch bei der Trypsinverdauung ein in saurer Lösung fällbares Propepton, obgleich nur in sehr geringen Mengen, als Zwischenprodukt entsteht.

Dass dieses Propepton sehr nahe mit dem bei der Magenverdauung gebildeten verwandt ist, zeigt eine Mittheilung, die mir Herr Dr. Landwehr freundlichst gemacht hat. Er hat nämlich für das durch Pepsin gebildete, in neutraler Lösung durch Kochsalz fällbare Propepton die folgende Zusammensetzung, bezogen auf das bei 110° getrocknete Präparat, gefunden:

	1.	2.	Mittel.
Kohlenstoff .	50,53 %	50,42 %	50,48 %
Wasserstoff .	6,70 «	6,66 «	6,68 «
Stickstoff . .	16,90 «	—	16,90 «

Das ganze chemische Verhalten des Präparates ist auch völlig dem durch die Trypsinverdauung entstandenen in saurer Lösung durch Kochsalz fällbaren Propepton gleich. Beide Produkte haben auch das gemein, dass sie sehr leicht in wässriger Lösung oder feuchter Luft theilweise in Eiweiss übergehen, so dass die Lösung etwas coagulirbar wird und das Pulver sich nicht mehr klar in Wasser löst.

III.

Das Pancreaspepton.

Das durch Trypsin aus Fibrin gebildete Pepton unterscheidet sich durch keine bis jetzt bekannte Reaktionen von

dem Magenpepton. Freilich findet Kistiakowsky¹⁾ weniger Kohlenstoff darin als in dem letzteren; da aber seine Analysen nicht wiederholt sind, darf man keine endgültigen Schlüsse daraus ziehen, umso mehr, als die von ihm angewandte Methode zur Darstellung des Pancreaspeptons nicht die Garantie wie die jetzige, besonders von Hofmeister ausgebildete gibt. Eine erneuerte Untersuchung des Pancreaspeptons und des von Kühne²⁾ beschriebenen Antipepton erschien demnach sehr wünschenswerth.

Zur Darstellung des Peptons wurde die Flüssigkeit nach erfolgter Verdauung des Fibrins zuerst durch schwaches Ansäuern mit Essigsäure und Kochen unter Zusatz von etwas Natriumacetat und Eisenchlorid vollständig von Globulin und Propepton befreit, so dass Essigsäure und Ferrocyankalium keine Spur eines Niederschlages hervorbrachten. Nach der Filtration und nach gründlichem Auswaschen mit Wasser, bis die ablaufende Flüssigkeit keine Peptonreaktion mehr gab, wurde dem gesammten Filtrat ca $\frac{1}{5}$ Volum concentrirte Schwefelsäure hinzugesetzt und das Pepton darauf mit Phosphorwolframsäure vollständig ausgefällt. Der Niederschlag wurde abfiltrirt, mit verdünnter Schwefelsäure (5%) ausgewaschen, mit Wasser und pulverisirtem Aetzbaryt zusammengerieben und zuletzt gesättigte Barytlösung bis zur starken alkalischen Reaktion hinzugefügt. Nach der Filtration und Waschen mit Wasser wurde die Flüssigkeit durch Kohlensäure von überschüssigem Baryt befreit, filtrirt etwas abgedampft, durch vorsichtiges Hinzusetzen von verdünnter Schwefelsäure das noch in Lösung gebliebene Baryt genau entfernt und die Flüssigkeit nach Filtration zu einem sehr kleinen Volumen bei mässiger Wärme eingedampft, worauf schliesslich das Pepton nach dem Erkalten durch Zusatz einer grossen Quantität absoluten Alkohols ausgefällt wurde. Um ein möglichst aschenfreies Präparat zu erhalten, muss gewöhnlich der erste Niederschlag mehrmals wieder in Wasser

¹⁾ Archiv für die gesammte Physiologie, Bd. 9, S. 438.

²⁾ Verhandlungen des naturhistorischen Vereins zu Heidelberg, N. F., Bd. 1, S. 196.

gelöst und mit Alkohol gefällt werden. Nach möglichst raschem Abfiltriren und Auswaschen der Peptonfällung mit Alkohol, wurde sie noch feucht unter die Luftpumpenglocke über concentrirte Schwefelsäure gebracht und rasch im Vacuum getrocknet.

Die Darstellung eines reinen Präparates gelingt nicht leicht, denn erstens ist das Pepton um so löslicher in Alkohol, je besser es gereinigt ist und zweitens besitzt der Peptonniederschlag eine ausgesprochene Neigung, gummiartig zu werden, so dass er sehr leicht an den Gefäßwänden klebt und sich schwer davon entfernen lässt, oder er wird erst während des Trocknens gummös und kann dann nicht in erheblichen Mengen vom Filter gelöst werden, ohne dass zugleich Papierfasern mitgehen. Aus allen diesen Gründen wird gewöhnlich die Ausbeute des möglichst reinen Produktes sehr gering, ja es passirt sogar nicht selten, dass Alles in alkoholische Lösung geht, woraus es sich nicht leicht wiedergewinnen lässt. Zuweilen gelingt es doch, alle diese Schwierigkeiten zu vermeiden und das Pepton in Gestalt eines feinen lockeren Pulvers zu gewinnen, welches sich leicht vom Gefäß und Filter löst und eine recht gute Ausbeute giebt. Unter welchen Bedingungen dies geschieht, ist mir aber leider nicht möglich, mit Bestimmtheit anzugeben. Es scheint aber, dass die Reaktion der Lösung vor der Fällung hier eine wesentliche Rolle spielt, indem diese sehr schwach, aber entschieden schwefelsauer sein muss; hat man zu viel Schwefelsäure hinzugesetzt, so löst sich oft beinahe die ganze Fällung wieder in Alkohol auf und der Rest bekommt ein gummiartiges, gelbes Aussehen und lässt sich kaum vom Gefäß entfernen; durch zu wenig Schwefelsäure auf der anderen Seite erhält man freilich eine bessere Fällung, der Niederschlag ist aber stark barythaltig und enthält dann auch gewöhnlich etwas Propepton, das sich leicht aus Pepton in alkalischer Lösung bildet. Ich habe auch versucht, in ganz säure- und alkalifreier Lösung zu fällen, indem ich nach der Ausfällung des Baryts mit Schwefelsäure den Ueberschuss von dieser mit Bleicarbonat und das in Lösung

gegangene Blei mit Schwefelwasserstoff entfernte, aber ohne sicheres Resultat. Ausser schwachem Schwefelsäuregehalt scheint auch starkes Schütteln gleich nach der Fällung von gutem Einfluss zu sein.

Ist die Darstellung gut gelungen, so erscheint das Pancreaspepton als zartes, schwach gelbliches Pulver von 0,3 bis 0,6% Aschengehalt, das die bekannten Peptonreaktionen giebt, und zuweilen starke elektrische Eigenschaften zeigt, so dass es bei Zerreiben im Mörser leicht wegfliegt. Ein ganz weisses Präparat deutet immer auf grossen Aschengehalt hin. Sonst habe ich keinerlei Unterschiede in den qualitativen Reaktionen des Pancreas- und Magenpeptons finden können; ausdrücklich hebe ich hervor, dass es unter denselben Bedingungen wie Magenpepton in Propepton und Eiweiss zurückverwandelt wird. Die Elementaranalysen wurden mit Präparaten angestellt, die erst längere Zeit bei 100° und schliesslich bei einer bis 110° gesteigerten Temperatur getrocknet waren. Für die einzelnen Bestimmungen gilt das früher Gesagte.

Die Analysen ergaben:

1. Präparat.

Angewandte Substanz . . .	0,2060 gr.
Gefundene Kohlensäure . . .	0,3763 «
Gefundenes Wasser . . .	0,1256 «
Angewandte Substanz . . .	0,2402 «
Gefundener Stickstoff . . .	0,0380 «
Angewandte Substanz . . .	1,2427 «
Gefundenes Baryumsulfat . . .	0,0977 «

2. Präparat.

Angewandte Substanz . . .	0,2421 gr.
Gefundene Kohlensäure . . .	0,4450 «
Gefundenes Wasser . . .	0,1486 «
Angewandte Substanz . . .	0,3024 «
Gefundener Stickstoff . . .	0,0476 «
Angewandte Substanz . . .	0,9432 «
Gefundenes Baryumsulfat . . .	0,0666 «

3. Präparat.

Angewandte Substanz . . .	0,2357 gr.
Gefundene Kohlensäure . . .	0,4306 «
Gefundenes Wasser . . .	0,1438 «

Angewandte Substanz . . .	0,2532 gr.
Gefundener Stickstoff . . .	0,0404 «
Angewandte Substanz . . .	1,0330 «
Gefundenes Baryumsulfat . . .	0,0850 «

4. Präparat.

Angewandte Substanz . . .	0,2525 gr.
Gefundene Kohlensäure . . .	0,4623 «
Gefundenes Wasser . . .	0,1563 «

Nach den Analysen wird die procentische Zusammensetzung des Pancreaspeptons die folgende:

	1.	2.	3.	4.	Mittel.
Kohlenstoff.	50,08 %	50,12 %	49,58 %	49,93 %	50,00 %
Wasserstoff.	6,77 «	6,82 «	6,78 «	6,88 «	6,81 «
Stickstoff .	15,82 «	15,71 «	15,97 «	—	15,83 «
Schwefel. .	1,08 «	0,97 «	1,13 «	—	1,06 «

Kistiakowsky¹⁾ fand für das Pancreaspepton aus Fibrin C = 42,70%, H = 7,13%, N = 15,92%, S = 1,03%; allein sein Pepton war mit Silberoxyd behandelt worden und deshalb wahrscheinlich oxydirt. Jedenfalls bietet die jetzige von mir angewandte Darstellungsmethode eine viel grössere Garantie für die Reinheit als die früheren und auch die Analysen zeigen eine so befriedigende Uebereinstimmung, dass schon daraus hervorgeht, dass ein sehr gleichartiges Produkt immer erhalten wurde. Nimmt man dann noch Rücksicht auf das ganze Verhalten des untersuchten Peptons, den geringen Aschengehalt u. s. w., so ist es wenigstens unwahrscheinlich, dass es wesentliche Verunreinigungen enthalten haben kann. Freilich ist es vor der Hand kaum möglich, sich eine völlige Sicherheit für die Reinheit des Peptons zu verschaffen, aber ein hoher Grad von Wahrscheinlichkeit kann wenigstens beansprucht werden. Als letztes Mittel der Reinigung könnte man allerdings zur Diffusion greifen, aber abgesehen von den dadurch bedingten grossen Verlusten des schon sparsam zu beschaffenden Materials, hat mir dieser Prozess niemals befriedigende Resultate gegeben, indem sich

¹⁾ Loc. cit., S. 438.

bald eine Trübung in der Diffusionszelle bildet, und es nicht lange dauert, bevor die bekannten Reaktionen des Propeptons eintreten. Jedenfalls glaube ich auch behaupten zu dürfen, dass Niemand mit reineren Peptonpräparaten als ich gearbeitet habe.

Zum Vergleich stelle ich hier die Resultate der Elementaranalyse des Fibrins und des daraus durch Trypsin erhaltenen Peptons zusammen:

	Fibrin ¹⁾ :	Pancreaspepton
Kohlenstoff	52,68%	50,00%
Wasserstoff	6,83 «	6,81 «
Stickstoff	16,91 «	15,83 «
Schwefel	1,10 «	1,06 «

Es geht daraus hervor, dass das Pancreaspepton weniger Kohlenstoff und Stickstoff als Fibrin enthält, während die übrigen Bestandtheile ungefähr in gleicher Menge vorhanden sind. Zu demselben Resultat ist auch früher Kossel²⁾ bei Magenpepton gelangt, und in der neuesten Zeit auch Kühne und Chittenden³⁾, während Maly⁴⁾, Henninger⁵⁾ u. A. gefunden haben, dass Eiweiss und Pepton gleich zusammengesetzt sind. Es stehen einander hier also zwei Angaben gegenüber, die fundamental ganz verschieden sind, und es kann von Interesse sein, zu untersuchen, woher diese Verschiedenheit rührt. Es ist schon erwähnt worden, dass keiner der früheren Forscher die Peptone durch Fällung mit Phosphorwolframsäure in der von Eiweiss und Propepton befreiten Flüssigkeit dargestellt hat, eine Methode, deren Ueberlegenheit sogleich in's Auge fällt. Wenn man nicht in der Weise gerirt, ist es nöthig, um das Propepton völlig in Pepton zu überführen, mit einer sehr kräftig wirkenden Verdauungsflüssigkeit zu arbeiten, eine Bedingung, der nur Kossel Genüge geleistet hat, indem

¹⁾ Nach Hammarsten.

²⁾ Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. III, S. 58—60.

³⁾ Zeitschrift für Biologie, Bd. XIX, S. 159—208.

⁴⁾ Archiv für die gesammte Physiologie, Bd. 9, S. 585.

⁵⁾ De la nature et du rôle physiologique des peptones, Paris 1878.

Maly und Henninger eine nach Krasilnikoff's Methode gereinigte Verdauungsflüssigkeit anwandten, während Kossel mit dem salzsauren Infus einer Schweinemagenschleimhaut arbeitete. Man darf daher mit einem hohen Grad von Wahrscheinlichkeit, wenn nicht mit Gewissheit sagen, dass Maly's und Henninger's Präparate stark mit Propepton, ja sogar vielleicht mit löslichem Eiweiss verunreinigt waren. In Kossel's Versuchen ist dagegen eine solche Verunreinigung der kräftigen Verdauung wegen nicht gut möglich, und seine Analysen stimmen desshalb auch ganz gut mit meinen überein, vergleiche:

	Kossel:	Otto:
Kohlenstoff	49,69%	50,00%
Wasserstoff	6,96 «	6,81 «

Nach dem experimentellen Abschluss dieser Arbeit ist auch eine Untersuchung von Kühne und Chittenden¹⁾ erschienen, welche die von Kossel und von mir gefundene Zusammensetzung des Peptons bestätigt²⁾. Die genannten Autoren unterscheiden übrigens eine so grosse Menge verschiedener Arten von Peptonen, dass eine Vergleichung der erhaltenen Zahlen mit meinen nicht gut möglich ist. Auch Kühne und Chittenden suchen den Grund für die abweichenden Resultate der früher erwähnten Forscher in einer Beimengung ihrer Präparate von Propepton (Hemialbumose). Nach dem Mitgetheilten dürfte man jetzt wohl als feststehend annehmen, dass die Peptone als eine Art von Hydrationsprodukten der Eiweissstoffe aufzufassen sind; in einer anderen Weise lassen sich die Verschiedenheiten in der Zusammensetzung kaum erklären. Zwar wird in einer neueren Arbeit von Pöhl³⁾ die alte Anschauung vertheidigt, aber ohne haltbare Gründe, nur auf einige zweifelhafte polarimetrische Bestimmungen gestützt. Für die von Kossel, von Kühne und Chittenden und von mir vertretene Auffassung spricht auch die bekannte Rückverwandlung des Peptons in Eiweiss

¹⁾ Zeitschrift für Biologie, Bd. XIX, S. 159—208.

²⁾ Vergleiche besonders die Zusammenstellung, loc. cit., S. 96f.

³⁾ Pöhl: Ueber die Bildung des Peptons, und dessen Rückverwandlung in Eiweiss.

sehr, indem wenigstens die meisten Prozesse¹⁾, wodurch dies geschieht, als wasserentziehend zu betrachten sind. Sämmtliche diese Rückverwandlungen, die meines Wissens bis jetzt nur bei dem Magenpepton beobachtet wurden, habe ich auch für das Pancreaspepton constatiren können.

Es war nun von Wichtigkeit, zu entscheiden, ob das Pancreaspepton mit dem Magenpepton identisch ist. Das qualitative Verhalten der beiden Körper spricht sehr dafür und auch die quantitative Zusammensetzung soweit sie bis jetzt ermittelt ist, vergleiche:

	Pancreaspepton:	Magenpepton:
Kohlenstoff	50,00%	49,69%
Wasserstoff	6,81 «	6,96 «
Stickstoff	15,83 «	—
Schwefel	1,03 «	—

Allein ich gebe gerne zu, dass noch weitere Beweise nöthig sind. Kossel hat besonders darauf aufmerksam gemacht¹⁾, dass das Magenpepton mit Salzen eigenthümliche Verbindungen eingeht, und hat auch eine solche mit Chlorcalcium dargestellt und analysirt. Ich habe dasselbe bei dem Pancreaspepton beobachten können und es schien für die Identitätsfrage von Werth, zu untersuchen, ob die Chlorcalciumverbindung des Pancreaspeptons dieselbe Zusammensetzung wie die des Magenpeptons besitzt; denn man könnte sich leicht denken, dass sich eine Verschiedenheit der beiden Peptone hier geltend machen würde, und auf der anderen Seite würde eine übereinstimmende Zusammensetzung einen nicht unwichtigen Beitrag zum Beweis der Identität liefern.

Die Darstellung der Chlorcalciumverbindung des Pancreaspeptons gelingt leicht. Man braucht nur zu einer sehr concentrirten Lösung des Peptons eine gleichfalls concentrirte alkoholische (oder wässrige) Chlorcalciumlösung zu setzen, um dann sogleich nach Zusatz einer grossen Menge absoluten Alkohols einen Niederschlag von der erwähnten

¹⁾ Vergleiche Henninger: Loc. cit.; Hofmeister: Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. 2, S. 206; Danilewski: Centralblatt für die medicinischen Wissenschaften 1880, Nr. 42.

²⁾ Archiv für die gesammte Physiologie, Bd. 13, S. 309–320.

Verbindung zu erhalten. Diese Fällung setzt sich gut ab, klebt nicht an den Wänden des Gefasses, lässt sich leicht filtriren und mit absolutem Alkohol auswaschen und löst sich auch nach raschem Trocknen über Schwefelsäure im Vacuum mit der grössten Leichtigkeit vom Filter, so dass es sich schon in seinen äusseren Eigenschaften von dem reinen Pepton unterscheidet. Sonst lässt sich die Verbindung leicht in Wasser und gibt die gewöhnlichen Peptonreaktionen.

Die Analyse¹⁾ des bei 110° getrockneten Präparates ergab:

1. Präparat.

Angewandte Substanz . . .	0,2622 gr.
Gefundens Kohleensäure . . .	0,4334 "
Gefundenes Wasser . . .	0,1548 "
Angewandte Substanz . . .	0,3538 "
Gefundener Stickstoff . . .	0,04953 "
Angewandte Substanz . . .	1,3522 "
Gefundenes Baryumsulfat . . .	0,0963 "
Angewandte Substanz . . .	1,0330 "
Gefundenes Calciumoxyd . . .	0,0798 "
Angewandte Substanz . . .	1,1458 "
Gefundenes Chlorsilber . . .	0,1102 "

2. Präparat.

Angewandte Substanz . . .	0,2035 gr.
Gefundener Stickstoff . . .	0,02842 "
Angewandte Substanz . . .	0,9558 "
Gefundenes Baryumsulfat . . .	0,0646 "
Angewandte Substanz . . .	1,2348 "
Gefundenes Calciumoxyd . . .	0,0974 "
Angewandte Substanz . . .	0,9461 "
Gefundenes Chlorsilber . . .	0,0968 "

Untenstehende Tabelle gibt die aus den Analysen berechneten Elementarbestandtheile in Procenten an:

	1.	2.	Mittel.
Kohlenstoff . . .	45,08 %	—	45,08 %
Wasserstoff . . .	6,65 "	—	6,65 "
Stickstoff . . .	14,00 "	13,82 %	13,91
Schwefel . . .	0,98 "	0,93 "	0,96
Calcium . . .	5,52 "	5,63 "	5,58
Chlor . . .	2,38 "	2,53 "	2,46

¹⁾ Die Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung geschah durch Verbrennung mit chromsaurem Blei.

Kossel fand für die Chlorecalciumverbindung des Magenpeptons: C = 45,13%, H = 6,23%, N = 13,96%, S = 1,07, Ca = 5,68%, Cl = 2,34%, also Zahlen, die mit meinen in der wünschenswerthesten Uebereinstimmung stehen. In welcher Weise diese Verbindung constituirt ist, lässt sich zur Zeit nicht mit Sicherheit entscheiden. Kossel hat (a. a. O., S. 318) einige Betrachtungen darüber angestellt, wozu ich nichts Neues hinzuzufügen weiss; alle seine Voraussetzungen aber geben, wenn man daraus die Zusammensetzung des Peptons zu berechnen versucht, Zahlen, die den direct gefundenen gegenüber zu niedrig sind, so dass es nicht wahrscheinlich scheint, dass das Richtige gefunden ist.

Eine wichtige Stütze aber geben diese Analysen der Chlorecalciumverbindung des Magen- und Pancreaspeptons für die Ansicht, dass die beiden Peptone identisch sind; denn es ist nicht wohl möglich, dass zwei verschiedene Körper eine so ganz ähnliche Verbindung mit anorganischen Stoffen bilden würden. Für die Identität spricht auch, wie gesagt, das ganze qualitative und quantitative Verhalten der beiden Substanzen, so wie ihre Zusammensetzung, während meines Wissens nur die Analysen von Kistiakowsky und die Untersuchungen von Béchamp¹⁾ für die Nichtidentität angeführt werden können. Was die ersteren betrifft, so darf man ihnen wegen der Behandlung des analysirten Peptons mit Silberoxyd nicht zu grosse Bedeutung beilegen, weil diese Reinigung allzu leicht durch Oxydation den procentischen Gehalt an Kohlenstoff und Stickstoff herabsetzt und ausserdem sprechen meine Analysen dagegen. Béchamp verglich die Einwirkung von Trypsin und Magensaft, indem er die spezifische Drehung der Verdauungsprodukte bestimmte. Während bei der Pepsinverdauung das Drehungsvermögen ungefähr constant blieb, sank dasselbe bei der Pancreasverdauung sehr erheblich und Béchamp schliesst daraus auf eine Verschiedenheit der durch Pepsin und Trypsin gebildeten Peptone. Um dies Verhältniss zu untersuchen, habe ich die spezifische Drehung des Pancreaspeptons zu bestimmen versucht, obgleich

¹⁾ Recherches sur les albuminoses pancréatiques, Comptes rendus. T. 91, p. 838—886.

ich mir von Anfang an nicht viel von einer solchen Bestimmung versprach. Es liegt nämlich ein grosser Uebelstand dabei in dem Feststellen der Concentration der angewandten Lösungen, indem die Bestimmung des Peptongehalts einer Flüssigkeit, selbst wenn sie nur Pepton enthält, mit grossen Mängeln behaftet sind. Es gibt hier zwei Wege, indem man die Concentration colorimetrisch oder durch einfaches Eindampfen, Trocknen und Wägen bestimmen kann. Die erste Methode kann aber schon deshalb keine guten Resultate geben, weil die Farbe der Peptonlösung mit der zugesetzten Kupfersulfatmenge variirt, und was die zweite betrifft, so geht das Pepton bekanntlich durch Eindampfen und Trocknen zum grossen Theil in Propepton und Eiweiss über. Indessen habe ich das zweite Verfahren für die Concentrationsbestimmung angewandt und immer nach Eindampfen der in dem genau calibrirten Polarisationsrohr enthaltenen Flüssigkeit, bei 100—110° zum constanten Gewicht getrocknet. Der benutzte Apparat und die Röhrenlänge waren dieselben wie bei der Globulinsubstanz beschrieben, und die Bestimmung geschah für Natriumlicht und bei 20° C.

Die Resultate folgen in der untenstehenden Tabelle:

Concentration.	Abgel. Winkel.	Spec. Drehung.
0,0621 gr.	8,094°	— 65,17
0,0536 «	7,002	— 65,32
0,0435 «	5,706	— 65,58
0,0352 «	4,650	— 65,87
0,0288 «	3,800	— 65,97

Aus der Tabelle scheint es hervorzugehen, dass die Drehungsconstante mit der Verdünnung der Lösung zunimmt, ein Resultat, welches auch mit Pöhl¹⁾ übereinstimmt. Die spezifische Drehung des Magenpeptons ist nach Hofmeister²⁾ — 63,5, nach Pöhl — 61 bis — 65. Obgleich die verschiedenen Bestimmungen also nicht sehr gut stimmende Werthe gegeben haben, sprechen sie doch auch nicht gerade gegen die Identität der beiden Peptone, vielmehr liefern sie eher

¹⁾ A. a O.

²⁾ Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. IV, S. 272.

einen Beweis dafür, indem sie mit Béchamp's Angaben in Widerspruch stehen. Allein ich lege, der angeführten Gründe wegen, kein allzu grosses Gewicht darauf, obgleich ich, dem ganzen Resultate der Untersuchung gemäss, geneigt bin, die Identität anzunehmen. So viel ist wenigstens sicher, dass irgend ein fundamentaler Unterschied zwischen Magen- und Pancreaspepton nicht existirt; Alles spricht dagegen.

IV.

Das Antipepton.

Nach Kühne¹⁾ soll das bei der Pancreasverdauung anfangs gebildete Pepton durch weitere Trypsinwirkung in eine eigenthümliche Substanz, Antipepton, und Leucin, Tyrosin u. s. w. umgewandelt werden. Da weitere Angaben über diesen eigenthümlichen Körper nicht existiren²⁾, habe ich ihn in den Kreis meiner Untersuchungen gezogen, um so lieber, als er in einer gewissen Weise das Endprodukt der Trypsinverdauung bilden soll.

Es war für die Versuche über das Antipepton vor Allem nöthig, die Trypsinwirkung ohne Eintreten von Fäulniss lange fortzusetzen, welches mir mit Hülfe von Aether in der früher beschriebenen Weise gelungen ist, indem ich dadurch die Verdauung 10 Tage lang fort dauern lassen konnte, ohne dass mehr als höchstens eine geringe Spur von Hydroparacumarsäure als Fäulnissprodukt gebildet war, während sich die Flüssigkeit frei von Indol und Bacterien zeigte.

Um nun zuerst zu sehen, ob das Pepton überhaupt in der von Kühne angegebenen Weise durch längere Zeit hindurch fortgesetzte Trypsinverdauung verändert wird, wurde folgender Versuch angestellt:

48 gr. feuchtes Fibrin, entsprechend 18 gr. Trockensubstanz, wurden mit Trypsin (als wässerigem Pancreasauszug) verdaut. Nach Verlauf von zwei Tagen wurde die Flüssigkeit in zwei gleiche Theile getheilt, der erste sogleich

¹⁾ Verhandlungen des naturhistorischen Vereins in Heidelberg. N. F., Bd. I. S. 196.

²⁾ Mit Ausnahme der früher erwähnten, soeben erschienenen Arbeit von Kühne und Chittenden.

auf Pepton verarbeitet, der zweite dagegen erst nach weiterer achttägiger Verdauung. Das Pepton wurde aus beiden Flüssigkeiten, wie früher beschrieben, dargestellt, nur mit dem Unterschiede, dass ich nach der Decomposition des Phosphorwolframsäureniederschlags mit Baryt und Ausfällen des Ueberschusses von dem letzten, nicht mit Alkohol füllte, sondern direct zum Trocknen abdampfte und nachher den Rückstand bei 100—110° trocknete und wog. Es war nämlich, wie gesagt, nicht meine Absicht, hier ein reines Produkt zu erhalten, sondern nur das quantitative Verhältniss der Decomposition einigermaßen zu bestimmen. Es zeigte sich dann, dass, während die nach zweitägiger Verdauung erhaltene Flüssigkeit 17,3 gr. Pepton lieferte, die nach zehntägiger Verdauung erhaltene nur 10,2 gr. gab. Dies Resultat stimmt ganz gut mit Kühne, indem er (loc. cit., S. 196) sagt, dass das anfangs gebildete Pepton bei der weiteren Trypsinwirkung in Antipepton, Leucin Tyrosin u. s. w. in der Weise decomponirt wird, dass es eine Antipeptonmenge giebt, die ungefähr der Hälfte der zur Verdauung angewandten Eiweisssubstanz (Fibrin) entspricht.

Um die Eigenschaften dieses Antipeptons näher kennen zu lernen, wurde dasselbe aus einer Flüssigkeit, erhalten durch zehntägige Trypsinverdauung einer grösseren Quantität Fibrin, genau wie gewöhnliches Pepton dargestellt, durch mehrmaliges Auflösen in Wasser und Wiederfällung mit Alkohol gereinigt und schliesslich über Schwefelsäure im Vacuum getrocknet.

Das Antipepton bildet ein schwach gelbliches Pulver, leicht und vollkommen in Wasser zu einer klaren Flüssigkeit mit saurer Reaktion löslich, die nicht durch Kochen, concentrirte Salpetersäure oder Essigsäure und Ferrocyankalium gefällt wird und die gewöhnlichen Peptonreaktionen giebt. Nach dem Trocknen bei 100—110° C. enthält es 0,67% Asche und die Elementaranalyse des völlig trockenen Präparates ergab:

1. Präparat.

Angewandte Substanz . . .	0,2274 gr.
Gefundene Kohlensäure . . .	0,4141 "
Gefundenes Wasser . . .	0,1418 "

Angewandte Substanz . . .	0,2133 «
Gefundener Stickstoff . . .	0,0336 «

2. Präparat.

Angewandte Substanz . . .	0,3111 gr.
Gefundene Kohlensäure . . .	0,5644 «
Gefundenes Wasser . . .	0,1935 «
Angewandte Substanz . . .	0,1812 «
Gefundener Stickstoff . . .	0,02867 «

In Procenten berechnet, wird das Resultat der Analysen:

	1.	2.	Mittel.
Kohlenstoff . . .	49,70 %	49,48 %	49,59 %
Wasserstoff . . .	6,93 «	6,91 «	6,92 «
Stickstoff . . .	15,76 «	15,82 «	15,79 «

Diese Zusammensetzung entspricht bis auf wenige Zehntel derjenigen des analysirten Pancreaspeptons. Die Analysen des Antipeptons stimmen bezüglich des Kohlenstoffgehaltes nicht ganz mit den von Kühne und Chittenden neuerdings ausgeführten überein, vergleiche:

	Kühne u. Chittenden:	Otto:
Kohlenstoff	48,95 %	49,59 %
Wasserstoff	6,75 «	6,92 «
Stickstoff	15,89 «	15,79 «

Allein ihr Präparat enthielt 2,74% Asche, die einfach abgezogen worden sind, was immer bei einem so grossen Gehalte bedenklich ist; übrigens ist die Differenz, wie ersichtlich, auch nicht sehr gross.

Jedenfalls kann ich Kühne's Angaben insoweit bestätigen, dass nach länger fortgesetzter Trypsinverdauung ein undecomponirtes Pepton zurückbleibt, dessen Menge ungefähr die Hälfte des verdauten Fibrins beträgt; ob aber daraus geschlossen werden darf, dass das Pepton ein Gemisch von zweien ist, wie Kühne angibt, will ich dahingestellt sein lassen und bezüglich der dafür angeführten Argumente auf die früher citirte Arbeit von Kühne und Chittenden verweisen.

Schliesslich erfülle ich eine angenehme Pflicht, indem ich Herrn Prof. Hoppe-Seyler für seine freundliche Unterstützung bei dieser Arbeit meinen besten Dank abstatte.