

Ein Beitrag zur Kenntniss des Pepsins.

Von

Carl Sundberg.

(Aus dem Laboratorium für medicinische Chemie in Upsala.)
(Der Redaktion zugegangen am 3. Januar 1885.)

Unsere Kenntniss von der Natur der ungeformten Fermente ist bekanntlich äusserst dürftig, und die Reindarstellung dieser Substanzen dürfte wohl noch in keinem Falle als sicher gelungen anzusehen sein. Auch die Frage von der Verwandtschaft der Enzyme mit den Eiweissstoffen ist noch unentschieden; und es zeigen die bisher möglichst isolirten Fermente in dieser Hinsicht ein wesentlich verschiedenes Verhalten. Während also beispielsweise das Trypsin, wie es von Kühne dargestellt worden ist, den Eiweissstoffen mindestens sehr nahe verwandt ist, zeigt dagegen das nach der Brücke'schen Methode dargestellte Pepsin ein von den Eiweissstoffen wesentlich abweichendes Verhalten.

Die Eiweissnatur des Pepsins ist doch hierdurch eigentlich nicht ausgeschlossen; denn es wäre denkbar, dass die physiologische Reaktion dieses Enzyms, d. h. also seine verdauende Wirkung, ein ungemein empfindlicheres Reagens als die gewöhnlichen Eiweissreaktionen wäre. Es war darum von Interesse, das Pepsin wenn möglich auch auf eine andere Weise darzustellen und die Eigenschaften dieses Pepsins mit denjenigen des Brücke'schen Präparates zu vergleichen.

Zu dem Ende habe ich auch in dem hiesigen Institute für medicinische Chemie auf Anregung und unter Leitung von Herrn Prof. Hammarsten einige Versuche über diesen Gegenstand ausgeführt.

Meine Versuche sind mit Kalbsmägen angestellt, welche genau gereinigt und dann von dem Pylorustheile befreit wurden. Als Extraktionsmittel habe ich verschiedene Flüssigkeiten versucht; die besten Resultate — d. h. die pepsinreichste und gleichzeitig von Eiweiss am wenigsten verunreinigte Infusion — erhielt ich doch bei Anwendung von einer gesättigten Kochsalzlösung. Eine gesättigte Salicylsäurelösung leistete auch recht gute Dienste.

Behufs der Extraktion mit gesättigter Kochsalzlösung verfuhr ich auf folgende Weise: Zuerst wurde der Pylorustheil abgetrennt; und dann von der Oberflächse des genau gereinigten und mit Wasser abgespülten Magens die oberflächlichste Schicht der Schleimhaut mit einem Uhrglase leise abgeschabt. Die so erhaltene Masse wurde mit einer abgewogenen Menge Kochsalz fein zerrieben und dann so viel Wasser zugesetzt, dass eine gesättigte Kochsalzlösung erhalten wurde. Nach Verlauf von 2—3mal 24 Stunden wurde filtrirt und das NaCl durch Dialyse in Wursthülsen aus der Lösung entfernt. Es war dabei doch nothwendig, die Dialyse in angesäuertem Wasser von Statten gehen zu lassen, denn in neutraler Lösung kann das Pepsin ziemlich rasch zerstört werden.

Bei der Dialyse fand regelmässig die Ausscheidung einer Proteinsubstanz — wenn auch in geringer Menge — statt. Die Lösung wurde also schon während der Dialyse etwas ärmer an Eiweiss; dabei wurde doch gleichzeitig auch ein wenig Pepsin verloren, welches von dem Eiweissniederschlage mit niedergerissen worden war.

Die so gewonnene dialysirte Lösung verdaute ungemein kräftig, enthielt aber nur so wenig coagulables Eiweiss, dass die Heller'sche Eiweissprobe erst nach 1—3 Minuten eine deutlich sichtbare Reaktion gab.

Ausser den verunreinigenden Eiweiss Spuren konnte diese Lösung noch von dem Labfermente verunreinigt sein. Dieses Ferment wird nun, wie Hammarsten gezeigt hat, durch anhaltendes Erwärmen der sauren Lösung bei etwa 40° C. zerstört; und da das Eiweiss dabei gleichzeitig in Pepton

verwandelt wird, war es also nothwendig, die obige saure Lösung einer anhaltenden Selbstverdauung zu unterwerfen. Bei dieser Verdauung wurde nun auch das Eiweiss so vollständig in Pepton übergeführt, dass die neutralisirte Flüssigkeit mit Essigsäure und Ferrocyankalium gar keine Reaction gab und mit der weit empfindlicheren Heller'schen Probe erst nach 8–9 Minuten die Andeutung eines Ringes zeigte. Um ein solches Resultat zu erhalten, musste doch die Verdauung oft 1 à 2 Wochen fortgesetzt werden, und dabei konnte auffallender Weise keine merkbare Herabsetzung der Verdauungsfähigkeit beobachtet werden.

Behufs der weiteren Reinigung der so erhaltenen Pepsinlösung wurde die noch saure Lösung mit Chlorcalcium- und Natriumdiphosphatlösung vermischt und dann durch Zusatz von sehr verdünntem Ammoniak neutralisirt oder höchstens äusserst schwach alkalisch gemacht. Der Phosphatniederschlag reisst dabei einen Theil des Pepsins mit sich nieder, während ein nicht unbedeutender Theil davon in der Lösung bleibt. Will man eine vollständigere Ausfällung des Pepsins erreichen, muss man darum auch das Ausfällen mit Calciumphosphat 2 oder 3 mal wiederholen, denn es hilft nicht, wenn man auf ein Mal eine grosse Menge von Chlorcalcium und Natriumphosphatlösung zusetzt.

Der pepsinhaltige Calciumphosphatniederschlag wird auf ein Filtrum gesammelt, sorgfältig gewaschen und dann in möglichst wenig (damit die neue Lösung möglichst concentrirt werde) Salzsäure von 5% gelöst. Diese Lösung wird nun bis zum möglichst vollständigen Entfernen der verunreinigenden Salze dialysirt.

Die zuletzt erhaltene, völlig klare, ungefärbte Lösung, verdaut — auf den passenden Säuregrad gebracht — ausserordentlich kräftig und — wenn möglich — noch kräftiger als die ursprüngliche Lösung.

Bei der qualitativen Prüfung verhielt sich diese Lösung negativ zu allen denjenigen Eiweissreagentien, Gerbsäure, Quecksilberchlorid, Jod u. A., gegen welche die Brücke'sche Pepsinlösung indifferent war. Im Gegensatz zu dem Brücke-

schen Pepsin verhielt sich meine Lösung auch indifferent zu Platinchlorid, Bleizucker und Bleiessig, von welchen Reagentien die Brücke'sche Pepsinlösung gefällt wurde.

Das einzige Reagens, von welchem meine Pepsinlösung gefällt wurde, war absoluter Alkohol. Bei Zusatz von 5 bis 6 Volum Alkohol wurde nämlich die Lösung fast sogleich opalisirend und nach Verlauf von etwa einer Stunde enthielt die Flüssigkeit in geringer Menge eine rein weisse, flockige Fällung. Die Fällung wurde abfiltrirt und in angesäuertem Wasser gelöst. Sie hatte durch die Ausfällung mit Alkohol ihre verdauende Kraft nicht eingebüsst. Nach längerer (monatelanger) Aufbewahrung unter Alkohol war der Niederschlag dagegen unlöslich und unwirksam geworden.

Die Menge des so gewonnenen Niederschlages war keine so grosse, dass eine Elementaranalyse versucht werden konnte. Nur so viel kann ich sagen, dass die Substanz stickstoffhaltig war. Beim Erhitzen auf einem Platinbleche wurde nämlich ein ziemlich starker Geruch nach gebranntem Horn wahrgenommen; und die Substanz verbrannte unter Hinterlassung von einer nicht unbedeutenden Menge Asche.

Abgesehen von den Mineralbestandtheilen war also das von mir isolirte Pepsin reiner als das Brücke'sche, insofern als dieses von Platinchlorid, Bleizucker und Bleiessig gefällt wurde, welche Reagentien in meinen Pepsinlösungen keine Niederschläge hervorriefen. Mit den Eiweissreagentien wurde in meinen Pepsinlösungen, wie in den Brücke'schen, keine positiven Reactionen erhalten, was gegen die Eiweissnatur des Pepsins spricht. Man kann zwar hiergegen einwenden, dass auch meine Lösungen arm an Substanz waren; wenn man sich aber vergegenwärtigt, dass sie sehr kräftig verdauten, dass sie von Gerbsäure, welche doch das Eiweiss in einer Lösung von 1:100 000¹⁾ anzeigt, nicht getrübt wurden, während Alkohol, welcher doch kein empfindlicheres Eiweissreagens als Gerbsäure ist, eine flockige Fällung gab, so wird die Eiweissnatur des Pepsins mindestens sehr unwahrscheinlich.

¹⁾ Hofmeister: Diese Zeitschrift, Bd. II. S. 292.