

Zur Kenntniss der Verdauungsvorgänge im Dünndarm. I.

Von

Fr. Kutscher und **J. Seemann.**

(Aus dem physiologischen Institut in Marburg.)

Der Redaction zugegangen am 16. Januar 1902.

Seitdem wir das Vermögen des Trypsins, die Eiweisskörper im Reagensglase schnell und vollkommen unter Bildung einfacher krystallinischer Substanzen zu spalten, kennen gelernt hatten, interessirte uns die Frage, wie sich die Verhältnisse im Dünndarm, dem normalen Wirkungsort des Trypsins, abspielen, auf das Lebhafteste. Liess sich hier der Verlauf der Eiweisspaltung als ein analoger erweisen, d. h. liess es sich zeigen, dass das Eiweiss vor seiner Resorption regelmässig eine weitgehende Spaltung erfährt, so mussten diese Resultate von wesentlichem Einfluss auf unsere Ansichten von dem Ab- und Aufbau des Eiweisses im thierischen Organismus sein.

Bevor wir auf die Resultate unserer Versuche, die sich mit dem Ablauf der Eiweisszersetzung im Dünndarm beschäftigen, eingehen, wollen wir zunächst die verschiedenen Arbeiten besprechen, welche die gleiche Frage berühren. Die erste, die hier aufzuführen ist, rührt merkwürdiger Weise aus einer Zeit her, in der das Trypsin noch nicht bekannt war. Sie stammt von Kölliker und Müller¹⁾ und ist ausgezeichnet durch eine Reihe scharfer Beobachtungen. Die beiden genannten Forscher untersuchten zunächst auf Veranlassung Virchow's den Pankreassaft auf das Vorkommen von Leucin

¹⁾ Verhandlungen d. physik. med. Gesellschaft in Würzburg, Bd. 6. S. 507. Jahrg. 1856.

und Tyrosin. Im Anschluss hieran fahndeten sie dann auch auf die gleichen Substanzen im Darminhalt. Wir geben die Resultate mit ihren eigenen Worten wieder.

«Was nun den Darminhalt anlangt, so ist nichts leichter, als Leucinkugeln und die Büschel von Krystallnadeln, welche Frerichs und Städeler als Tyrosin bezeichnen, in demselben nachzuweisen. Will man reinlich verfahren, so kocht man den Inhalt mit einigen Tropfen Acid. aceticum, filtrirt und dampft ab, allein in vielen Fällen reicht es hin, den Inhalt einfach trocknen zu lassen, um die schönsten Kugelaggregate und Nadelbüschel zu erhalten. Immerhin glaube man nicht, dass Leucin und Tyrosin in allen Fällen nachzuweisen sind, vielmehr glauben wir nach unseren bisherigen Erfahrungen, die sich auf Untersuchungen an 3 Katzen, 3 Hunden, 2 Meerschweinchen und 2 Fälle vom Menschen stützen, sagen zu dürfen, dass dieselben nur dann gefunden wurden, wenn der Darm zur Zeit der Magen- oder Dünndarmverdauung untersucht wird, im nüchternen Zustand dagegen fehlen, wenigstens waren wir in 3 solchen Fällen, beim Menschen, beim Hunde und bei der Katze, nicht im Stande, eine Spur derselben zu finden, wogegen sie bei einem Verunglückten, dessen Magen voll Speisen war, und bei reichlich gefütterten Thieren in übergrosser Menge darzustellen waren. Sehr auffallend war uns, dass Kaninchen unter keinen Verhältnissen Leucin und Tyrosin im Darminhalte zeigten, während diese Substanzen doch bei Meerschweinchen in grosser Menge sich fanden, und können wir als einziges Moment, das hier vielleicht Aufschluss zu geben im Stande ist, das anführen, dass unsere Meerschweinchen Milch und Brod, die Kaninchen dagegen die gewöhnliche vegetabilische Kost erhielten.

Das Vorkommen des Leucins und Tyrosins in den verschiedenen Abtheilungen des Darmes anlangend, so fanden sich, wenn anders diese Körper überhaupt da waren, dieselben constant in grosser Menge im Duodenum und in der oberen Hälfte des Dünndarmes. In der unteren Hälfte des letzteren waren dieselben immer vorhanden, aber viel spärlicher als höher oben, dagegen fehlten dieselben im Dickdarm ohne Ausnahme. Im Magen fehlten dieselben in 3 Fällen ganz, in zwei anderen, bei einem Verunglückten und bei einer Katze, kamen dieselben auch hier, jedoch nur in geringer Menge vor und war wenigstens bei der Katze dieses Vorkommen nicht gegen die Ableitung derselben aus dem pankreatischen Saftesprechend, da der Magen gallig gefärbte Massen enthielt. Im Blute der Pfortader eines Hundes und einer Katze, im Chylus der letzteren und im Harn der beiden Thiere waren wir nicht im Stande, Leucin und Tyrosin zu finden, doch wollen wir auf dieses negative Resultat kein grösseres Gewicht legen, da wir nur kleine Mengen, namentlich vom Chylus und Blut, zur Untersuchung hatten.»

Die richtige Deutung vermochten Kölliker und Müller ihren Versuchen nicht zu geben, weil ihnen das Trypsin und seine Wirkungsweise unbekannt war. Sie nahmen an, die reichlichen Mengen von Leucin und Tyrosin, die sie stets beim verdauenden Menschen und Thiere nachweisen konnten, stammten aus dem Pankreassaft, ohne allerdings diese Frage als eine ganz abgemachte zu bezeichnen. Als sicher erwiesen betrachteten sie dagegen, dass das im Dünndarm enthaltene Leucin und Tyrosin in diesem selbst zersetzt oder resorbirt werden und nicht in die Excremente übergehen.

Es folgte nunmehr die bekannte Arbeit Kühne's,¹⁾ in der dieser Forscher uns über die Wirkung des Trypsins unterrichtete. Die ausserhalb des Thierkörpers erhaltenen Resultate versuchte Kühne sofort durch den Thierversuch zu erhärten. Zu diesem Zwecke führte er 20 g Fibrin in ein abgebundenes ausgespültes Darmstück, in welches der Pankreasgang mündete, ein. Nach 4 Stunden war bereits ein wesentlicher Theil des Fibrins verdaut. In dem Inhalt des ausgeschalteten Darmstückes vermochte Kühne 0,3 g Tyrosin, die gleiche Menge Leucin und etwas Pankreaspepton nachzuweisen. Auf Grund dieses Versuches, sowie der im Vorstehenden näher geschilderten Angaben Kölliker's und Müller's nahm Kühne eine Spaltung der Eiweisskörper bis zur Bildung von Leucin und Tyrosin im Dünndarm des Thieres als normal an. Die entstehenden krystallinischen Spaltungsprodukte fasste er jedoch als werthlos für den Organismus auf, als Abfälle einer Eiweisseconsumption. Seiner Ansicht nach spielte sich dadurch, dass der Organismus das Eiweiss durch die Verdauungssäfte in zu weitgehender Weise im Darm spaltete, im Verdauungstractus ein Vorgang ab, der zur Luxusconsumption führen musste.

Die Arbeiten Kühne's wurden von Schmidt-Mülheim²⁾ wieder aufgenommen. Das Resultat der Versuche Schmidt-Mülheim's war ein überraschendes, denn im Gegen-

1) Virchow's Archiv, Bd. 39, S. 155 ff.

2) Archiv für Anatomie und Physiologie, Physiol. Abth., Jahrg. 1879, S. 39 ff.

satz zu seinen Vorgängern kam er zu folgendem Schluss: «Die Bildung krystallinischer Zersetzungsprodukte des Eiweisses ist unter physiologischen Verhältnissen so unbedeutend, dass von der Umwandlung und Resorption einer irgend nennenswerthen Menge Eiweiss in Form krystallinischer Körper gar keine Rede sein kann.»

Zu ähnlichen Resultaten dagegen wie Kölliker und Müller kam 1890 Sheridan Lea.¹⁾

Schliesslich wären hier noch hervorzuheben die ausführlichen Untersuchungen über die chemischen Vorgänge im menschlichen Dünndarm, die von Macfadyen, Nencki und Sieber²⁾ angestellt worden sind. Die Genannten untersuchten lange Zeit die Darmentleerungen, welche sich aus der am untersten Ende des Dünndarms sitzenden Fistel bei einer in der Berner chirurgischen Universitätsklinik befindlichen Patientin entleerten. Sie fanden darin gelöstes Eiweiss und Pepton, nie aber Leucin und Tyrosin. Diese Resultate bestätigen die Beobachtung von Kölliker und Müller, nach denen Leucin und Tyrosin bei ihrem Durchgang durch den Dünndarm aus demselben allmählich verschwinden.

Hauptsächlich auf Grund der Arbeiten Schmidt-Mülheim's wurde die Anschauung Kühne's über den Ablauf der Dünndarmverdauung verlassen. Wir glauben die derzeitigen Ansichten darüber am besten mit den folgenden Worten Bunge's³⁾ wiederzugeben: «Dass unter normalen Verhältnissen die Menge der im Darm gebildeten Amidosäuren eine erhebliche sei, muss schon a priori aus teleologischen Gründen bezweifelt werden. Es wäre eine Verschwendung der chemischen Spannkraft, welche bei der Spaltung zwecklos in lebendige Kraft sich umsetzen, und eine Wiedervereinigung der Produkte einer so tiefgreifenden Spaltung jenseits der Darmwand ist sehr unwahrscheinlich.»

Gegen die teleologischen Gründe, die Bunge ins Feld führt, lassen sich allerdings schwerwiegende Einwände geltend machen.

1) Journal of Physiologie, Bd. 11, S. 226. Jahrg. 1890.

2) Archiv f. exp. Pathol. und Therapie, Bd. 28, S. 311.

3) Lehrbuch der physiol. u. pathol. Chemie, 1887, S. 176.

Wir sehen beispielsweise die im Dunkeln keimende Pflanze das im Samenkorn angehäuften Eiweiss vor der Verwendung zunächst bis zu krystallinischen Spaltungsprodukten wie Leucin, Tyrosin, Asparaginsäure, Glufaminsäure, Histidin, Arginin und Lysin abbauen. Damit begnügt sich die Pflanze nicht einmal, sondern sie verwandelt die vorher genannten Substanzen noch in Asparagin, von dem sie ausgeht, um in den wachsenden Pflanzentheilen von Neuem Eiweiss zu bilden.¹⁾ Die Pflanze ist also mit der Liquidation und Peptonisirung des im Samen aufgehäuften Eiweisses nicht zufrieden, trotzdem es sich bei ihr um ein adäquates Eiweiss handelt. Und wir wundern uns gar nicht darüber, weil es für die Pflanze sicher vortheilhafter ist, ihr Reserveeiweiss zunächst in Asparagin umzusetzen, um von diesem aus synthetisch ihr Körpereiwiss wieder aufzubauen. Warum die Verhältnisse beim Thier, das in seiner Nahrung nicht einmal gleichartiges, sondern stets fremdartiges Eiweiss aufnimmt, nicht ähnlich liegen sollen, ist von vornherein nicht einzusehen. Jedenfalls erschien uns aber, bevor wir uns der Frage zuwandten, ob der Thierkörper aus den einfachen bei der Trypsinverdauung aus dem Eiweiss hervorgehenden Substanzen sein Körpereiwiss aufzubauen vermag,²⁾ nöthig, zunächst den Nachweis zu führen, dass dieselben in Wirklichkeit auch stets im Darm gebildet werden. Das Ergebniss des ersten in dieser Richtung unternommenen Versuches haben wir im Centralblatt für Physiologie bereits kurz mitgetheilt.³⁾

Wir benutzten damals einen grossen Jagdhund, bei dem der Dünndarm ungefähr in der Mitte durchtrennt war. Die beiden Darmenden waren in die Bauchwand eingenäht worden. Die Operation⁴⁾ und Heilung verlief glatt. Die ersten 3 Tage nach der Operation erhielt das Thier keine Nahrung, danach führten wir ihm täglich in das untere Darmstück durch

1) Siehe hierzu namentlich die Arbeiten von E. Schulze, Landwirthschaftliche Jahrbücher, Bd. 27, S. 503–516 u. Jahrg. 1901, S. 288 u. ff.

2) Dasselbe ist soeben von O. Loewi durch einen Stoffwechselversuch am Hunde erwiesen worden. Centralbl. f. Physiol., XV, Nr. 20.

3) Centralbl. f. Physiol., Jahrg. 1901, Heft 10.

4) Herr Prof. Enderlen hatte die Freundlichkeit, die Operation auszuführen.

die Fistel ca. 1 Liter Milch ein. Am 8. Tage nach der Operation erhielt der Hund 500 g mageres, fein gehacktes Ochsenfleisch. Ungefähr 6 Stunden nach der Fütterung begann aus der Fistelöffnung des oberen Darmstückes die reichliche Absonderung eines dickflüssigen, schleimigen Chymus. Die Absonderung sistirte ca. 3 Stunden später. Die aus der Fistel entleerten Massen mochten im Ganzen ungefähr 500 ccm. betragen. Sie wurden in getheilten Portionen möglichst gleich nach der Entleerung mit Wasser verrührt, aufgeköcht, filtrirt. Das Filtrat, das sich bei der Prüfung frei von biuretgebender Substanz zeigte, wurde auf dem Wasserbade stark eingeengt. Dabei schieden sich reichlich amorphe Flocken und Fetzen ab. Von diesen wurde abfiltrirt. Das neue Filtrat liessen wir zur weiteren Reinigung langsam durch Knochenkohle hindurchlaufen. Nunmehr wurde die Flüssigkeit auf dem Wasserbade zum dünnen Syrup eingeengt. Beim Erkalten erstarrte derselbe zu einem Krystallbrei, der mikroskopisch das Bild der Leucinknollen und Tyrosinbüschel aufwies.

Die Krystallmassen wurden von der syrupösen Mutterlauge abgesaugt, in Wasser gelöst und mit Bleiessig nach den Angaben von Hlasiwetz und Habermann¹⁾ behandelt. Das Filtrat der Bleifällung wurde mit Schwefelwasserstoff entbleit. Aus demselben liessen sich nunmehr ohne Schwierigkeit durch Krystallisation reines Leucin und Tyrosin gewinnen. Dieselben wurden durch die gewöhnlichen Reactionen und die Analyse identificirt. Die Ausbeute an Tyrosin betrug 0,131 g, die Ausbeute an Leucin 2,30 g.

0,1179 g Leucin sättigten nach der Veraschung nach Kjeldahl 8,9 ccm. $\frac{1}{10}$ N-Oxalsäure.

Für $C_6H_{13}NO_2$

Berechnet

N = 10,69 %

Gefunden

N = 10,57 %

0,115 g Tyrosin sättigten nach der Veraschung nach Kjeldahl 6,0 ccm. $\frac{1}{10}$ N-Oxalsäure.

Für $C_9H_{11}NO_3$

Berechnet

N = 7,7 %

Gefunden

N = 7,30 %

¹⁾ Liebig's Annalen. Bd. 169. S. 160.

Die Mutterlauge von Leucin und Tyrosin wurde auf 200 ccm gebracht, mit Salpetersäure schwach angesäuert und mit Silbernitratlösung gefällt. Die Fällung wurde abgesaugt und verworfen. Dem Filtrat wurde darauf so lange 10^o ige Silbernitratlösung zugefügt, bis eine Probe in gesättigtem Barytwasser einen braunen Niederschlag fallen liess. Darauf wurde die ganze Flüssigkeit in der Kälte mit Baryumhydroxyd gesättigt. Der entstandene Niederschlag, den wir als Niederschlag I bezeichnen wollen, wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen, in verdünnter Schwefelsäure gelöst und mit Baryumsulfid zersetzt. Nach Entfernung des gebildeten Silbersulfids etc. resultirte eine stark alkalisch reagirende Flüssigkeit. Dieselbe wurde mit Salpetersäure genau neutralisirt, zum Syrup eingeeengt. Eine Krystallisation wollte sich nicht abscheiden. Wir gaben daher eine Spur Argininnitrat dazu, doch lösten sich die zugefügten Krystalle. Wir haben diese Argininfraction später mit anderen weiter verarbeitet.

Das Filtrat von Niederschlag I wurde durch Schwefel- und Salzsäure von Silber und Baryt befreit und darauf mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Aus der Phosphorwolframfällung liess sich schliesslich nach der Methode Kossel's ein Pikrat darstellen, das nach Behandlung mit Thierkohle bei der Analyse Werthe lieferte, die für Lysinpikrat stimmten.

Es gaben bei der Verbrennung 0,1128 g Substanz 18,8 ccm. Stickstoff, T. = 17° C., Ba = 746 mm.

Es lieferten bei der Verbrennung 0,2224 g Substanz 0,310 g Kohlensäure und 0,0902 g Wasser.

Für $C_6H_{14}N_2O_2 \cdot C_6H_3N_3O_7$

Berechnet:	Gefunden:
N = 18,67 %	N = 19,08 %
C = 38,40	C = 38,03
H = 4,53	H = 4,54

Die Ausbeute an analysenreinem Lysin hatte ca. 0,5 g betragen. Weitere Spaltungsprodukte der Eiweisskörper zu isoliren, versuchten wir in diesem Falle nicht.

Durch vorstehenden Versuch war der Beweis geliefert, dass im Darm eine weitgehende und reichliche Spaltung der

Eiweisskörper stattfinden kann, also Verhältnisse, wie sie Kölliker, Müller und Kühne schildern, sehr wohl aufzutreten vermögen. Wir haben dann durch eine Reihe weiterer Versuche zu erhärten gestrebt, dass in der Norm die Spaltung der Eiweisskörper im Dünndarm über die Bildung von Pepton hinausgeht, und weiter haben wir uns bemüht, eine Anschauung darüber zu erhalten, ob die gebildeten krystallinischen Spaltungsprodukte, wie Kühne will, als Abfallstoffe zu betrachten sind, oder als Bausteine, die dem Thiere zur Bildung seines Körpereiwisses dienen. Für letztere Ansicht haben sich unseres Wissens Salkowski und Leube¹⁾ zuerst ausgesprochen. Wir geben ihre Anschauungen über die eventuelle Bildung von Eiweiss aus Leucin etc. im Folgenden mit ihren eigenen Worten wieder:

«Es wäre auch möglich, dass in der Norm das der Leber von anderwärts zugeführte Leucin wenigstens zum Theil zur Synthese benutzt wird. Dafür spricht die Thatsache, dass die Vermehrung der Harnstoffausscheidung bei Fütterungen mit Leucin doch nicht entsprechend ist der verfütterten Leucinmenge und fernerhin die Analogie mit den neuerdings entdeckten chemischen Vorgängen bei der Keimung der Pflanzen, wonach die dabei auftretenden Spaltungsprodukte der Eiweissstoffe (Asparagin, Leucin und Tyrosin) sich durch Aufnahme von Kohlehydraten zu Eiweiss reconstruiren. Dass im Stoffwechsel des gesunden menschlichen Organismus gerade in der Leber eine solche Synthese erfolgen könnte, wäre bei dem stetigen Vorrath an stickstoffreichem Material in der Leber, der Stätte der Glycogenbildung, gewiss am wenigsten verwunderlich und begriffe sich auf der anderen Seite leicht, dass beim Zugrundegehen jenes Organs und seiner Function in der acuten gelben Leberatrophie das Leucin, ohne in Eiweiss zurückverwandelt werden zu können, im Harn zur Ausscheidung käme.

Lea²⁾ hat diesen Ausführungen Salkowski's und Leube's sich ebenfalls angeschlossen.

Im weiteren Verlauf unserer Arbeit lehnten wir uns eng

1) Die Lehre vom Harn, Berlin 1882, S. 430.

2) l. c.

an die von Schmidt-Mülheim¹⁾ gewählte Versuchsanordnung an. Nach derselben wird das gefütterte Versuchsthier einige Zeit nach der letzten Fütterung getödtet und Magen- und Darminhalt untersucht.

Versuch I.

Versuchsthier: mittelgrosser Jagdhund. Der Hund hatte 48 Stunden gehungert. Er erhielt am 1. August 1901 1000 g bestes, mageres, feingehacktes Ochsenfleisch. 6 Stunden nach der Fütterung wird er chloroformirt und durch Verblutung aus der Vena portae getödtet. Der abgebundene Dünndarm und Magen werden gesondert entnommen. Im Magen fand sich noch fast das gesammte verfütterte Fleisch nur wenig verändert vor. Der Dünndarm enthält etwas schleimige, gallig verfärbte Flüssigkeit. Dieselbe wurde mit Wasser verdünnt, zum Sieden erhitzt und mit Essigsäure tropfenweise versetzt, so lange sich auf Zusatz dieses Reagens die entstandene Fällung vermehrte. Es wurde filtrirt. Das Filtrat war frei von biuretgebender Substanz. Nach dem Einengen schieden sich reichlich Krystallmassen ab, die dem mikroskopischen Bilde nach aus Leucin und Tyrosin bestanden.

Das Blut des Thieres wurde durch Coagulation von Eiweiss befreit. Leucin und Tyrosin, auf die wir das eiweissfreie Filtrat prüften, liessen sich darin nicht nachweisen.

Versuch II.

Versuchsthier: grosser Schäferhund. Der Hund erhielt, nachdem er 24 Stunden gehungert hatte, am 2. November 1901 Nachmittags um 2 Uhr und Abends um 10 Uhr je 500 g mageres, gehacktes Ochsenfleisch.

Um 10 Uhr wurde er in Chloroformnarkose tracheotomirt, um ihn später künstlich zu respiriren. Dann wurde durch ein eingeschaltetes, gut geöltes, mit physiologischer Kochsalzlösung gefülltes Glasrohr der Stamm der Vena portae mit der Vena cava verbunden, so dass die Leber aus dem Kreislauf ausgeschaltet war. Danach wurden durch Unterbindung der Bauchorta unterhalb der Arteria mesenterica inferior, sowie der Vena cava und der Nierenvenen und Nierenarterien auch die hinteren Extremitäten und die Nieren aus dem Kreislauf ausgeschaltet. Endlich wurden noch die beiden Carotiden und Subclavien an ihrem Abgang aus dem Aortenbogen unterbunden, so dass das Blut nur noch durch Darm, Lungen und Herz strömen konnte. Das Thier lebte unter künstlicher Respiration eine Stunde. Sobald der Herzschlag sehr schwach wurde, liessen wir das Thier aus der Vena cava inferior verbluten, unter Nachspülung mit mehreren Litern physiologischer Kochsalzlösung von der Vena jugularis her. Das Blut wurde durch Coagulation von den Eiweisskörpern befreit, das Filtrat eingengt, mit Schwefelsäure angesäuert und mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Die Phosphorwolframsäurefällung verarbeiteten wir

mit negativem Resultat auf Lysin. Die durch Phosphorwolframsäure nicht fällbare Fraction untersuchten wir auf Leucin und Tyrosin, aber ebenfalls vergeblich.

Das Coagulat des Blutes verrieben wir mit 2%iger Salzsäure und liessen es 5 Tage bei Zimmertemperatur stehen. Wir thaten dies, um uns zu überzeugen, ob nicht Mono- oder Diamidosäuren, locker an Eiweiss gebunden, sich im Blute befänden. Wir vermochten jedoch diese Körper durch Digestion mit Salzsäure aus dem Blutcoagulat nicht abzuspalten.

Versuch III.

Versuchsthier: grosser Schäferhund. Der Hund erhielt, nachdem er 24 Stunden gehungert hatte, am 15. November 1901, Nachmittags 3 Uhr, 500 g Fleisch; die gleiche Menge Fleisch erhielt er am selben Abend um 10 Uhr. Um 10 Uhr Vormittags am nächsten Tage wurde er chloroformirt und durch Verbluten aus der Pfortader getödtet. Magen und Dünndarm, die getrennt entnommen wurden, waren mässig gefüllt. Der Mageninhalt wurde nicht weiter untersucht. Der Darminhalt bildete eine gallig gefärbte, schleimige, neutral reagirende Flüssigkeit. Dieselbe wurde mit Wasser verdünnt, zum Sieden erhitzt und siedend heiss mit Essigsäure versetzt, solange eine Zugabe derselben eine Fällung erzeugte. Von den abgeschiedenen Flocken wurde abfiltrirt. Das Filtrat gab schwache Biuretreaction. Nach dem Einengen krystallisirte aus demselben ohne Weiteres reichlich Leucin und Tyrosin aus.

Wir haben in diesem und den folgenden Versuchen auch die Darmschleimhaut einer näheren Untersuchung unterworfen. Zu diesem Zweck wurde der Dünndarm, von dem übrigens das Duodenum nicht mit entnommen und verarbeitet wurde, zunächst sorgfältig mit Wasser abgewaschen; darnach wurde mit Hilfe eines Skalpells die Schleimhaut abgeschabt. Diese wurde alsdann mit Sand verrieben. Ein Theil der verriebenen Masse wurde darauf mit physiologischer Kochsalzlösung extrahirt und das Extract mit Alkohol gefällt. Die Fällung wurde nach 24 Stunden abgesaugt, über Schwefelsäure getrocknet und darnach mit etwas Chloroformwasser extrahirt¹⁾. Der wässrige Extract wurde, mit einer Fibrinflocke versetzt, bei 38° C. im Brutschrank gehalten. Nach 48 Stunden war ein merklicher Theil der Fibrinflocke gelöst worden.

Die Hauptmasse der mit Sand verriebenen Darmschleimhaut wurde in Wasser aufgeschwemmt und zum Sieden erhitzt. Darnach wurde vom Coagulat abfiltrirt und das Filtrat zum Syrup eingeengt. Eine Krystallisation von Leucin und Tyrosin liess sich daraus nicht erhalten.

Das Blut des Hundes wurde durch Coagulation von den Eiweisskörpern befreit, die eiweissfreie Flüssigkeit eingeengt und zur Krystallisation hingestellt. Weder Leucin noch Tyrosin kam zur Abscheidung.

¹⁾ Siehe Salkowski, Deutsche med. Wochenschr., 1888, Nr. 16.

Versuch IV.

Versuchsthier: kleiner Pintscher. Das Thier wurde, nachdem es 24 Stunden vorher gehungert hatte, am 22. November 1901 ebenso gefüttert, wie das Thier in Versuch III. Am nächsten Vormittag um 10 Uhr wurde es chloroformirt und aus der Pfortader verblutet. Magen und Dünndarm (ohne Duodenum) wurden getrennt entnommen; sie waren mässig gefüllt. Die Verarbeitung des Darminhaltes, der Schleimhaut und des Blutes geschah wie in Versuch III. Das Resultat war das gleiche. Aus dem Darminhalt krystallisirte reichlich Tyrosin und Leucin. Pepton war, der Biuretreaction nach zu urtheilen, nur in Spuren vorhanden. Die Darmwand und das Blut dagegen lieferten kein Leucin und Tyrosin.

Aus einem Theile der Schleimhaut konnten wir wie im vorigen Versuche ein Enzym isoliren, das langsam, aber merklich Fibrin löste.

Versuch V.

Versuchstier: grosser Schäferhund. Nach 24stündigem Fasten erhielt das Thier am 29. November 1901 das gleiche Futter wie die Thiere in Versuch III und IV. Am nächsten Vormittag um 11 Uhr wurde es durch Verbluten aus der Vena portarum getödtet. Magen und Darm waren mässig gefüllt. Wir verfahren wie in Versuch III und IV. Das Resultat war das gleiche: Aus dem Darminhalt erhielten wir ohne Schwierigkeit Leucin und Tyrosin; aus der Darmschleimhaut dagegen und aus dem Blute vermochten wir diese Körper nicht zu gewinnen. Auch bei diesem Versuche liess sich aus der Darmschleimhaut ein Enzym darstellen, das auf Fibrin lösend einwirkte. Wir haben übrigens in Versuch IV und in Versuch V zur Kontrolle eine Fibrinlocke nur mit Chloroformwasser angesetzt; an dieser Flocke konnten wir innerhalb der Zeit, in der wir sie beobachteten, eine Lösung nicht constatiren.

Wir haben, um unsere Resultate weiter zu befestigen und zu verfolgen, die Extracte, die wir in Versuch III, IV und V aus Darminhalt, Darmschleimhaut und Blut erhalten hatten, je mit einander vereinigt und dann weiter verarbeitet.

Zu diesem Zweck wurden zunächst die aus dem Darminhalt gewonnenen Massen, nachdem wir ihren reichlichen Gehalt an Leucin und Tyrosin constatirt hatten, wieder in Wasser aufgenommen, mit Schwefelsäure angesäuert und mit Phosphorwolframsäure gefällt. Die Phosphorwolframfällung wurde abfiltrirt und mit Barytwasser zersetzt. Nach Entfernung des überschüssigen Baryts durch CO_2 wurde die erhaltene Flüssigkeit eingeeengt und auf Hexonbasen weiter verarbeitet. Zu diesem Zweck wurde die alkalisch reagirende Flüssigkeit mit Silbernitratlösung gefällt. Diese erste Silberfällung, die

das Histidin enthalten musste, wurde abgesaugt und mit Salzsäure zersetzt, doch ist es uns bisher nicht gelungen, aus der Lösung Histidin als Histidindichlorid zu gewinnen.

Das Filtrat der ersten Silberfällung wurde nach Kossel's Angaben mit Silbernitrat und Baryt behandelt, um das Arginin als Silbersalz abzuscheiden. Die Silberfällung wurde abgesaugt, in verdünnter Schwefelsäure gelöst und mit Baryumsulfid zersetzt. Nach Entfernung des Silbersulfids etc. kamen wir zu einer stark alkalisch reagirenden Flüssigkeit: dieselbe wurde mit Salpetersäure neutralisirt; doch setzten sich keine Krystalle darin ab. Wir vereinigten den nicht unbeträchtlichen Syrup mit der uns aus dem Versuch mit dem Darmfistelhund verbliebenen Argininfraction und kochten die gesammte Masse längere Zeit mit einem Ueberschuss von kohlensaurem Kupfer. Dabei wurde reichlich Kupfer mit tiefblauer Farbe gelöst. Aus der Lösung schied sich jedoch bei weiterem Erwärmen ziemlich viel Cu_2O ab. Erst durch mehrfaches Behandeln mit Thierkohle konnten wir die reducirende Substanz beseitigen. Nunmehr krystallisirte nach genügender Concentration eine geringe Menge blauer Kryställchen vom Aussehen des Argininkupfernitrates aus. Die Ausbeute betrug ca. 0,1 g. Davon gaben 0,078 g bei der Verbrennung 0,0406 g CuO , das entspricht 10,82% Cu, während $(\text{C}_6\text{H}_{11}\text{N}_4\text{O}_2)_2(\text{NO}_3)_2\text{Cu} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ an Cu 10,76% verlangt. Die krystallwasserfreie Verbindung schmolz bei 232° C. uncorr.

Im Gegensatz zu der schwierigen Gewinnung des Arginins gelang es uns, auch in diesem Falle leicht nach dem Verfahren Kossel's aus dem Filtrat vom Argininsilber das Lysinpicrat zu gewinnen.

Die mit Phosphorwolframsäure nicht fällbare Fraction des Darminhalts aus Versuch III—V wurde durch Baryt von Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure, durch Schwefelsäure genau vom Baryt befreit. Nach dem Einengen erstarrte sie zu einem Krystallbrei von Leucin und Tyrosin. Die Mutterlauge dieser Krystalle gab, vorsichtig mit Ammoniak und Silbernitrat versetzt, einen mässigen Niederschlag; vielleicht waren dies Silberverbindungen von Glutaminsäure und Asparaginsäure; doch reichte die Menge nicht hin, diese Frage zu entscheiden.

Wir versuchten, die Extracte, die wir in den drei letzten Versuchen aus der Darmschleimhaut gewonnen hatten, ebenfalls mit Hülfe der Phosphorwolframsäure aufzuteilen. Doch war das Resultat unserer Bemühungen negativ: es gelang uns bisher nicht, auch nur einen krystallinischen Körper daraus darzustellen. Gleich vergeblich waren unsere Bemühungen, aus den vereinigten Blutextracten durch Ausfällung mit Phosphorwolframsäure etc. zu Mono- oder Diaminosäuren zu gelangen.

Werfen wir einen Blick auf die von uns im Vorstehenden geschilderten Resultate zurück, so sehen wir, dass jedenfalls unter bestimmten Bedingungen beim Hunde regelmässig die eingeführten Eiweisskörper im Darne über das Pepton hinaus gespalten werden. Von krystallinischen biruetfreien Spaltungsprodukten fanden wir in nicht unbeträchtlicher Menge Leucin, Tyrosin und Lysin, in geringer Menge Arginin. Unser Resultat steht also mit den Beobachtungen von Kölliker und Müller völlig im Einklang.

Nach diesen Befunden suchten wir der Frage näher zu treten, wie weit sich die im Darm stets vorhandenen krystallinischen Substanzen verfolgen lassen. Die Arbeiten von Nencki und Schultzen,¹⁾ die nach Verfütterung einer Reihe von Amidosäuren vermehrte Harnstoffausscheidungen erhielten, machten die Resorption dieser Substanzen zweifellos. Uns erschienen die Ansichten Leube's und Salkowski's,²⁾ nach denen das anderwärts im Körper gebildete Leucin etc. in der Leber durch Verkuppelung mit stickstofffreien Substanzen zu Eiweiss aufgebaut werden soll, ausserordentlich plausibel. Unter ihrem Einfluss stehend, unternahmen wir unseren Versuch II, in welchem wir die Leber aus dem Kreislauf ausschalteten und das Blut einige Zeit lang der Hauptsache nach nur durch den Darm, die Lungen und das Herz leiteten. Wir erwarteten eine Stapelung der krystallinischen Spaltungsprodukte im Blute zu erzielen. Als unser Suchen nach den Amidosäuren negativ ausfiel, waren wir, wie wir gestehen

1) Zeitschr. f. Biologie, Bd. 8, S. 124.

2) l. c.

können, nicht wenig überrascht. Ebenso resultatlos verliefen die Blutuntersuchungen bei den übrigen Versuchen (III—V). Allerdings lagen hier die Verhältnisse etwas ungünstiger; doch glauben wir, dass, wenn das Blut auch nur Spuren von Leucin etc. enthalten hätte, wir diese nachgewiesen hätten.

Nunmehr fanden wir bei den daraufhin unternommenen Untersuchungen der Darmschleimhaut in dieser nicht die geringste Menge der im Lumen reichlich vorhandenen Amidosäuren. Es lässt also die Darmschleimhaut diese Substanzen nicht unverändert passiren, vielmehr müssen dieselben sofort nach ihrem Eintritt in die Darmwand eine Umwandlung erfahren, die sie unserem Nachweis entzieht. Diese Umwandlung könnte in einem weiteren Abbau der fraglichen Substanzen bestehen. Die andere wahrscheinlichere Möglichkeit ist die, dass bereits in der Darmwand diese Körper wieder eine Synthese erleiden. Diese könnte sich in der Weise vollziehen, dass die Spaltungsprodukte der Nahrung mit einander wieder zu Eiweiss vereinigt werden, oder aber dass dieselben an andere einfachere oder complicirtere Substanzen, die in der Darmschleimhaut resp. im Blut enthalten sind, sich anhängen und mit ihnen, sei es in fester, sei es in lockerer (? siehe Versuch II) Bindung die Darmwand passiren und durch das Blut der Leber zugeführt werden, wo sie zu weiterem Aufbau verwendet werden. Welche der eben erwogenen Möglichkeiten zu Recht besteht, hoffen wir durch weitere Arbeiten zu entscheiden. Unsere Beobachtungen stehen also mit den Angaben von Ludwig und Salvioli,¹⁾ Hofmeister²⁾ u. A. in gutem Einklang, wonach das im Darm gespaltene Eiweiss der Nahrung bereits in der Darmwand eine Synthese erleidet, nur müssen wir dieselbe dahin modificiren resp. erweitern, dass wahrscheinlich selbst die krystallinischen Produkte der Dünndarmverdauung in der Darmwand schon wieder aufgebaut werden.

Wir hatten unsere Arbeit begonnen und ausgeführt unter der Voraussetzung, es komme für die Umwandlung der Eiweiss-

1) Dubois' Archiv 1880, Suppl.

2) Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. VI. 1882, S. 69. u. Arch. f. exp. Path. u. Pharmac. Bd. 19, S. 32; 20 S. 291; 22 S. 306.

körper in krystallinische Substanzen innerhalb des Darmrohres nur das Trypsin in Betracht. Inzwischen ist von Cohnheim¹⁾ eine Publication erschienen, nach der an der Eiweisspaltung im Darne ein bisher unbekanntes proteolytisches Enzym, das „Erepsin“, lebhaften Antheil haben soll. Nach Cohnheim sollen die Eiweisskörper der Nahrung durch das Pepsin und Trypsin der Hauptsache nach nur bis zu Propeptonen und Peptonen gespalten werden. Diese, aber auch nur diese, nicht die ungespaltenen Eiweisskörper, sollen dann erst unter Einwirkung des in der Darmschleimhaut gebildeten Erepsins in biuretfreie Spaltungsprodukte, unter denen sich auch Leucin und Tyrosin finden, weiter zerlegt werden. Die Frage, ob das Erepsin intracellulär oder im Darmlumen wirkt, lässt Cohnheim unentschieden. Den ersten Theil dieser Frage glauben wir auf Grund unserer Beobachtungen jedenfalls mit Bestimmtheit verneinen zu dürfen, da man dann Leucin und Tyrosin im Darmlumen entweder gar nicht oder nur in Spuren treffen dürfte, dagegen dieselben in reichlicher Menge in der Darmschleimhaut erwarten müsste: nach unseren Beobachtungen ist das Gegentheil der Fall. Aber auch gegen die Wirksamkeit des Erepsins innerhalb des Darmlumens scheint uns Einiges zu sprechen. Würde nämlich sich der Ablauf der Verdauung gestalten, wie Cohnheim will, also im Dünndarm sich das Nahrungseiweiss zunächst in Peptone spalten, und diese unter Einwirkung des Erepsins weiter zerfallen, so müsste man im oberen Theile des Dünndarms grösstentheils Peptone, nach unten zu überwiegend Amidosäuren finden. Dem widersprechen jedoch die bisher bekannten Untersuchungen, welche sich mit der regionären Vertheilung der Verdauungsprodukte im Darm beschäftigen. Kölliker und Müller²⁾ fanden im oberen Darmabschnitt reichlich Leucin und Tyrosin, in den unteren dagegen wenig; Nencki, Macfadyen und Sieber³⁾ vermochten aus dem Darminhalt, der den ganzen Dünndarm passirt hatte, wohl noch Eiweiss und

1) Diese Zeitschrift. Bd. XXXIII, S. 451.

2) l. c.

3) l. c.

Pepton, dagegen kein Leucin und Tyrosin zu isoliren. Uns scheint danach, als ob in der Norm bei der Eiweissverdauung im Dünndarm dem Erepsin eine wesentliche Rolle nicht zufällt; wir glauben daher auch die Bildung der Mono- und Diaminosäuren, die wir im Darm unserer Versuchsthiere beobachten konnten, der Hauptsache nach der Einwirkung des Trypsins auf das Nahrungseiweiss zuschreiben zu müssen.

Angeregt durch Cohnheim's Arbeit haben wir einige Versuche gemacht, um nachzuprüfen, ob überhaupt in der Darmwand während der Verdauung ein proteolytisches Enzym vorhanden ist. Von vornherein muss man erwarten, durch Extraction der Schleimhaut eine tryptisch wirkende Lösung zu gewinnen, da ja die Darmwand während der Verdauung vollgestopft ist mit Leucocyten und diese nach Achalmé¹⁾ und Fr. Müller²⁾ ein tryptisches Enzym enthalten. Gemäss unserer Voraussetzung gelang es uns denn auch, aus der Darmschleimhaut in den drei Fällen, wo wir es versuchten, ein Enzym, das langsam Fibrin löste, zu extrahiren. Ob dasselbe nur Leucocyten Trypsin oder resorbirtes Pankreastrypsin ist, möchten wir unentschieden lassen.

Unsere Resultate fassen wir in folgenden drei Sätzen zusammen:

1. In der Norm wird unter Einwirkung des Trypsins ein wesentlicher Theil der Eiweisskörper im Dünndarm bis zur Bildung krystallinischer Produkte, von denen wir bisher Leucin, Tyrosin, Lysin und Arginin isolirt haben, gespalten.

2. Die krystallinischen Spaltungsprodukte werden bereits in der Darmwand so umgewandelt, dass sie sich einstweilen unserem Nachweis entziehen.

3. Albumosen und Peptone konnten wir in nennenswerther Menge im Darminhalt nicht nachweisen.

1) Compt. rend. soc. biol. Bd. 51, S. 568.

2) Verhandl. d. naturforsch. Gesellsch. Basel, Bd. 13, Heft 2, S. 308.