

## **Weitere Mittheilungen über Eiweissresorption. Versuche an Octopoden.**

Von  
**Otto Cohnheim.**

(Aus dem physiologischen Laboratorium der zoologischen Station zu Neapel und dem  
physiologischen Institut Heidelberg.)

(Mit Unterstützung der Königlich preussischen Akademie der Wissenschaften.)

(Der Redaction zugegangen am 12. Mai 1902.)

Vor einiger Zeit habe ich Befunde mitgetheilt, nach denen das von Salvioli, Hofmeister und Neumeister beschriebene Verschwinden der Biuretreaction bei Berührung von Peptonlösungen mit der Darmschleimhaut auf einer Spaltung des Peptons beruht,<sup>1)</sup> und zwar auf einer Spaltung in die wohlbekannten krystallinischen Spaltungsprodukte, wie sie auch die Trypsin- und die Säurespaltung liefert.<sup>2)</sup> Die daraus sich ergebende Anschauung, dass das Nahrungseiweiss vor seiner Aufnahme in den Organismus in seine letzten Bausteine, die Mono- und Diaminosäuren, zerschlagen wird, hat unterdessen eine starke Stütze in der Beobachtung von Löwi<sup>3)</sup> gefunden, dem es gelang, das Eiweiss der Nahrung durch die Spaltungsprodukte der tryptischen Verdauung zu ersetzen. In dieselbe Richtung weisen die Untersuchungen von Kutscher und Seemann.<sup>4)</sup> Zeigten sie doch, dass der Zerfall des Eiweisses im Darmlumen weiter geht, als man es nach Schmidt-Mülheim<sup>5)</sup> u. A. bisher angenommen hatte.

1) O. Cohnheim, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 451, 1901.

2) O. Cohnheim, Diese Zeitschrift, Bd. XXXV, S. 134, 1902.

3) O. Löwi, Centralbl. f. Phys., Bd. 15, S. 590, 1902.

4) Fr. Kutscher und J. Seemann, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIV, S. 528, 1902.

5) A. Schmidt-Mülheim, Arch. f. (Anat. u.) Physiol., 1879, S. 39.

Danach können wir den heutigen Stand unseres Wissens von der Eiweissresorption und die vorliegenden Möglichkeiten folgendermassen zusammenfassen:

1. Es ist sicher, dass native Eiweisskörper in wässriger Lösung vom Darne aufgesaugt werden können, wie dies Voit und Bauer,<sup>1)</sup> Heidenhain,<sup>2)</sup> Friedländer<sup>3)</sup> und Waymouth Reid<sup>4)</sup> bewiesen haben. Denn der Einwand, dass das bei den Versuchen verwendete Serum- oder Eiereiweiss erst durch der Darmwand anhaftendes Trypsin peptonisirt worden sei, kann gegenüber der reichlichen und schnellen Eiweissresorption aus gereinigten Schlingen nicht erhoben werden. Dass die Spuren Trypsin, die in einer gut ausgespülten Darmschlinge noch vorhanden sind, in 50 Minuten 6,18 g der schwer verdaulichen Serumeiweisse peptonisiren könnten (Heidenhain, S. 596), wird wohl Niemand für möglich halten.

Der von den Darmepithelien erzeugte Wasserstrom nimmt ebenso gut wie andere gelöste Substanzen, die in die Zellen einzudringen vermögen, auch das gelöste Eiweiss mit. Aber Friedländer's Versuche zeigen auch (S. 271), dass das nur in der ersten Zeit der Fall ist; ist das Wasser wegresorbirt, so bleibt die Hauptmasse des Eiweisses zurück und kann ohne Eingreifen der Verdauungssäfte nicht transportirt werden.

Vor Allem aber spielt die Aufnahme von gelöstem, nativem Eiweiss in der wirklichen Ernährung ja eine äusserst geringe Rolle. Das gelöste Casein gerinnt im Magen, erreicht den Darm also nur im wiedergelösten, d. h. im gespaltenen Zustande. Der Pflanzenfresser geniesst kaum gelöstes Eiweiss, die Raubthiere nur die geringen Mengen im Blut etc. frisch getödteter Thiere, der Kulturmensch wohl nur, wenn er rohe Eier und manche Frutti di mare verzehrt.

2. Es ist sicher, dass ein Theil des Eiweisses vor seiner

---

1) C. Voit und J. Bauer, Zeitschr. f. Biol., Bd. 5, S. 536, 1869.

2) R. Heidenhain, Pflüger's Arch., Bd. 56, S. 579, 1894.

3) G. Friedländer, Zeitschr. f. Biol., Bd. 33, S. 264, 1896.

4) E. Waymouth Reid, Philosophical Transact. Ser. B., Vol. 192, S. 211, 1900.

Aufnahme in seine krystallinischen Spaltungsprodukte zerlegt wird. Dass der Darm dazu im Stande ist und es auch wirklich thut, haben Kutscher und Seemann und ich gezeigt. Und dass diese Spaltungsprodukte auch das Eiweiss ersetzen können, ergibt sich aus dem Versuche Löwi's, sowie aus denen von Blum<sup>1)</sup> über die physiologische Gleichwerthigkeit aller, auch chemisch verschieden gebauter Eiweisse. Auch der Befund von Kossel und Kutscher<sup>2)</sup> gehört hierher, dass mehreren für die Ernährung wichtigsten Pflanzeneiweissen das Lysin, ein regelmässiger Baustein aller thierischen Eiweisse, fehlt.

3. Es ist möglich, dass ein Theil des Eiweisses in der Form von Pepton zur Resorption gelangt. Es liegen zwar keine That- sachen für diese Form, aber auch keine entscheidenden da- gegen vor. Denn dass Schmidt-Mülheim und besonders Kutscher und Seemann im Darminhalt nur sehr wenig Pepton gefunden haben, beweist natürlich nichts: es könnte das Pepton ja gerade wegresorbirt worden sein. Die Resorption von Pepton erscheint mir angesichts des constanten Gehalts der Darmwand an wirksamem Erepsin unwahrscheinlich, aber, wie gesagt, nicht als bestimmt widerlegt.

Was nun das weitere Schicksal des resorbirten Eiweisses in, beziehentlich jenseits der Darmwand anlangt, so gehen die ungespalten aufgesaugten Eiweisse wohl als solche ins Blut über: der Befund Ascolis,<sup>3)</sup> der dies für das Eiereiweiss direkt gezeigt zu haben glaubte, ist freilich soeben wieder in Frage gestellt worden.<sup>4)</sup>

Dass die Peptone als solche nicht ins Blut gelangen, darf nach Neumeister's<sup>5)</sup> Ausführungen wohl als sicher gelten. Für die Spaltungsprodukte aber liegen offenbar drei Möglichkeiten vor:

1) L. Blum, Diese Zeitschrift. Bd. XXX. S. 15, 1900.

2) A. Kossel und F. Kutscher. Diese Zeitschrift. Bd. XXXI, S. 165, 1900.

3) M. Ascoli, Münchener medicin. Wochenschrift 1902, S. 398.

4) Rostoski, *ibid.* 1902, S. 740.

5) R. Neumeister, Zeitschr. f. Biol., Bd. 24, S. 272, 1888. — Derselbe, Lehrbuch der physiol. Chem., II. Aufl., Jena 1897, S. 307 ff.

1. Sie treten als solche ins Blut ein. Diesen nächstliegenden Fall, den Kutscher und Seemann auch erwartet hatten, weisen sie zurück, weil sie im Blut verdauender Thiere mit und ohne Ausschaltung der Leber weder Leucin oder Tyrosin, noch eine der Hexonbasen finden konnten. Aber so interessant und werthvoll ihr Nachweis ist, dass es auch mit den besten Methoden unmöglich ist, die Stoffe im Blute nachzuweisen, so halte ich den Schluss doch nicht für zwingend. Bei der allmählichen, sich über mehrere Stunden hinziehenden Verdauung und Resorption des Eiweisses dürfen wir gar nicht erwarten, in dem fortwährend durch den Kreislauf erneuerten Blute nachweisbare Mengen dem Blute fremder Stoffe anzutreffen. Ich möchte an meine Befunde bei den Echinodermen<sup>1)</sup> erinnern, bei denen die resorbirten Stoffe durch die Leibeshöhle hindurchtreten müssen; trotzdem konnte ich während voller Verdauung keine Kohlehydrate und nur ganz unbedeutende Spuren von Stickstoff nachweisen, weil Zu- und Abfuhr sich die Waage hielten. Was das Nichtauffinden der Amidosäuren in der Darmwand betrifft, so will ich nur auf die grossen Schwierigkeiten hinweisen, die sich Heidenhain in den Weg stellten, ehe er die harnfähigen Stoffe auf ihrem Wege durch die Nierenzellen nachweisen konnte.<sup>2)</sup> Wenn der Strom rasch genug strömt, kann durch einen bestimmten Querschnitt eine grosse Menge hindurchtreten, ohne dass man in einem einzelnen Zeitpunkt mehr als Spuren davon auffinden kann. Dass der Strom aber rasch die Darmwand passirt, wissen wir. Denn Schmidt-Mülheim (l. c.) und Horodynski, Salaskin und Zaleski<sup>3)</sup> haben gezeigt, über eine wie lange Zeit sich die Resorption hinzieht, und andererseits wissen wir aus den Versuchen der Zuntz'schen<sup>4)</sup> Schule, wie schnell das resorbirte Eiweiss im Körper verwerthet wird.

1) O. Cohnheim, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, 1901, S. 9.

2) R. Heidenhain, Hermann's Handbuch der Physiol., V, 1, S. 345 ff., 1883. -- Derselbe, Pflüger's Arch., Bd. 9, S. 1, 1875. — Arch. f. mikroskop. Anat., Bd. 10, S. 30, 1874.

3) Diese Zeitschrift 35, 246, 1902.

4) J. Frentzel, Verh. der Berliner physiol. Ges., Arch. f. (Anat. u.) Physiol., 1899, S. 383.

2. Es ist möglich, dass mit den Aminosäuren in der Darmwand eine weitere uns noch ganz unbekannte Umformung vor sich geht.

3. Es ist möglich, dass in der Darmwand bereits eine Synthese der Aminosäuren zu Eiweiss stattfindet. Die bisher für diese Annahme angeführten Gründe habe ich widerlegt und auch die Arbeit von Glässner<sup>1)</sup> scheint mir keine sicheren Beweise zu enthalten. Erstens bezieht sie sich auf den Magen, der nach Moritz<sup>2)</sup> und v. Mering<sup>3)</sup> nur unerheblich resorbirt. Ausserdem ist bekannt, und ich habe mich selbst oft davon überzeugt, dass in frischen Schleimhautauszügen das Eiweiss ausserordentlich schwer vollständig zu coaguliren ist. Es gelingt dies aber sehr viel leichter, wenn nach einigen Stunden ein Theil der Eiweisskörper geronnen ist. Ob die von Glässner beobachtete Differenz allein hierauf beruht, vermag ich nicht zu sagen, doch müsste bei den kleinen Zahlen der Einwand jedenfalls erst erledigt werden, ehe die Synthese des Eiweisses in der Schleimhaut wirklich bewiesen ist. Möglich bleibt sie freilich trotzdem, da Spaltung und Synthese desselben Stoffes sehr wohl in demselben Organ vereinigt sein können, so wie wir im Leberextract nur die Spaltung des Glycogens in Zucker, nicht aber den umgekehrten Process beobachten können.

Welche von diesen Möglichkeiten in Wirklichkeit vorliegt, darüber können nur Versuche entscheiden, in denen entweder das wieder aufgebaute Eiweiss oder die Spaltungsprodukte jenseits der Darmwand nachgewiesen werden. Am isolirten Säugethierdarm kam ich nicht zum Ziel, im Blut von Hunden fehlen die Spaltungsprodukte, wie Kutscher und Seemann gezeigt haben. Ich sah mich daher unter den

1) K. Glässner, Hofmeister's Beiträge I. S. 328, 1901.

2) F. Moritz, Verhandl. der Nürnberger Naturforscherversammlung, II., 2, 18, 1893. — Derselbe, Zeitschr. f. Biol., Bd. 32, S. 313, 1895. — Derselbe, Münchener medicin. Wochenschr. 1898, S. 1521. — Derselbe, Zeitschr. f. Biol., Bd. 42, S. 635, 1901.

3) J. v. Mering, Verhandl. des 12. Congresses f. innere Medicin, 1893, S. 471.

Kaltblütern nach einem geeigneteren Object um und fand ein solches in den Octopoden.

Die vorliegende Untersuchung ist in den Monaten März und April 1902 im physiologischen Laboratorium der zoologischen Station zu Neapel ausgeführt worden. Es ist mir ein Bedürfniss, meinem Lehrer und Freunde, Herrn J. v. Uexküll, der mich in die Kenntniss und die Behandlung der Seethiere eingeführt hat, für seine fortwährende Anregung und Hülfe meinen herzlichsten Dank auszusprechen. Und ebenso möchte ich auch an dieser Stelle Herrn Cav. Dr. Lo Bianco für die stets bereite Liebenswürdigkeit danken, mit der er mich während dieser Wochen mit reichlichstem Materiale versehen hat.

Zu den Versuchen habe ich die beiden nahe verwandten Arten *Octopus vulgaris* und *Eledone moschata* verwendet; einen Unterschied zwischen beiden konnte ich in den hier behandelten Functionen nicht bemerken. Die Octopoden sind hochstehende Thiere mit dem höchst entwickelten Centralnervensystem unter allen Wirbellosen.<sup>1)</sup> Sie sind geschickte und äusserst gefräßige Räuber mit lebhaftem Stoffwechsel. Betreffs ihres Körperbaues verweise ich z. B. auf die vergleichende Anatomie von Lang.<sup>2)</sup> Von der Mundöffnung führt der dünne Pharynx zu dem weiten, derbwandigen Oesophagus, dem scitlich breit der sogenannte Kropf aufsitzt, ein sehr dehnungsfähiges Reservoir. Die an seinem vorderen Ende mündenden grossen Speicheldrüsen sind Giftdrüsen.<sup>3)</sup> An den Oesophagus schliesst sich der Magen mit dem Spiralcoecum, und an diesen der gewundene Darm, der nicht in weitere Abschnitte gegliedert ist. In den Magen münden die beiden Ausführungsgänge der sogenannten Leber oder Mitteldarmdrüse. Die Blutversorgung geschieht von der vorderen Aorta aus, die mit dem Oesophagus kopfwärts verläuft, ein dickwandiges, bei grossen Thieren federkiel dickes Gefäss. Von Wichtigkeit für meine Versuche ist die Anordnung des venösen Blutsystems,

1) J. v. Uexküll, Z. f. Biol. Bd. 31, S. 584. 1895.

2) A. Lang, Vergleichende Anatomie, Bd. 3. 1892.

3) R. Krause, Die Speicheldrüsen der Cephalopoden. Centralbl. f. Physiol., Bd. 9, S. 273, 1895.

das um den Verdauungskanal herum einen weiten Blutsinus bildet, sodass der Darm etc. normaler Weise gewissermassen in seinem Blute schwimmt. Von den Functionen der Verdauungsorgane ist Einiges durch die grundlegende Arbeit von Frédéricq<sup>1)</sup> bekannt. Vor Allem zeigte er, dass die Verdauungsfermente von der Leber producirt werden. Krause fand, dass auch das Secret der Speicheldrüsen bei alkalischer Reaction Fibrin löst.

### Die Eiweissverdauung der Octopoden.

Bevor ich die Resorptionsversuche mittheile, muss ich über die Eiweisspaltung der Thiere berichten.

Wenn man eine Eledone nach mehrtägigem Hungern tödtet, findet man Kropf und Magen fast leer, der Darm ist auch leer oder enthält etwas fadenziehende, alkalische Flüssigkeit. Tödtet man das Thier dagegen in voller Verdauung, etwa einige Stunden, nachdem es mehrere *Carcinus* gefangen hat, so ist der Kropf und ebenso der Magen und Darm prall gefüllt mit einer bräunlichen Flüssigkeit, in der noch ungelöste Stückchen von Krebsmuskeln etc. schwimmen. Einen Unterschied zwischen Kropf- und Darminhalt konnte ich nicht bemerken, auch sieht man, wie ein Druck auf einen Theil des Verdauungsrohres die Flüssigkeit in dem ganzen System gleichmässig trifft. Wenn daher auch anatomisch von Cardia und Pylorus gesprochen wird, so scheint functionell kein Abschluss der Theile von einander vorhanden zu sein. Der Inhalt reagirte stets alkalisch und gab eine starke rothe Biuretreaction. Der Kropfinhalt löste eine Fibrinflocke in einigen Stunden.

Die Extracte von Kropf, Magen und Darm enthalten weder im hungernden noch im verdauenden Zustand ein fibrinlösendes Ferment. Dies stammt vielmehr, wie gesagt, aus der « Leber », und ich habe die Leber deshalb genauer untersucht. Das Secret der Leber zu erhalten, missglückte mir Anfangs: die des hungernden Thieres liefert gar kein Secret, die des ver-

<sup>1)</sup> L. Frédéricq, Recherches sur la Physiologie du Poulpe commun. Arch. de Zool. expériment. VII, 535. 1878.

dauenden höchstens einige Tropfen. Man muss vielmehr den ersten Beginn der Verdauung nehmen; ich warf den Thieren einige Krabben — *Carcinus maenas* — vor und tödtete sie bald nachher, wenn sie noch mit dem Ausweiden des ersten Exemplares beschäftigt waren. Dann war der Darm noch leer und nur im Kropf fanden sich schon Krebsstückchen. In diesen Fällen gelang es mir, aus einer Eledone-Leber, in deren beide Ausführungsgänge ich Glasröhrchen band, mehrere Cubikcentimeter Secret zu erhalten. Es liegt nahe, an die reflectorisch vermittelte Magensecretion Pawlow's zu denken. Einen Secretionsnerven habe ich nicht gefunden, aber auch nicht systematisch danach gesucht. — Das Secret ist eine braune, eiweisshaltige, stark alkalisch reagirende Flüssigkeit, die eine Fibrinflocke bei Zimmertemperatur in wenigen Stunden löst. Da ich das Secret aber zu anderen Zwecken brauchte, habe ich weitere Verdauungsversuche nur mit dem Extract der Leber angestellt.

Die Leber bildet ein grosses, massiges Organ, das von einer derben Kapsel umgeben, selbst aber ungemein weich, fast zerfliessend ist und das sich mit Wasser leicht vollständig in Lösung bringen lässt. Ein solcher, heller oder dunkler braun gefärbter, schwach alkalischer Extract enthält reichlich Eiweiss, das zum grössten Theil durch Essigsäure fällbar ist und von dem ein erheblicher Theil nach einigen Stunden spontan ausfällt. Nach Entfernung des Eiweisses durch die Hitzecoagulation zeigt das Filtrat eine starke Biuretreaction und einen sehr reichlichen Phosphorwolframsäureniederschlag. Sättigung mit Ammonsulfat erzeugt eine spärliche, vielleicht aus Albumosen bestehende Fällung; das ammoniumsulfatgesättigte Filtrat gibt auch noch eine starke Biuretreaction, enthält also echtes Pepton. Das Pepton wird durch Phosphorwolframsäure vollständig gefällt; doch ist im Filtrat dieser Fällung, wie Kjeldahl-Bestimmungen ergaben, auch noch eine beträchtliche Menge Stickstoff vorhanden; es gab stets die Millon'sche Reaction und ich konnte daraus Leucin in schönen Krystallen gewinnen. Die Resultate einiger quantitativen Stickstoffbestimmungen nach Kjeldahl sind in folgender Tabelle enthalten:

	Cubik- centi- meter	Ge- samt- N	Davon ist coagulirbares Eiweiss	Nicht coagulirbar	Nicht durch Phosphor- wolframsäure fällbar		
1	580	1,359 g	0,606 g 44,6 %	0,757 g 55,7 %	—	—	4 Lebern.
2	670	—	2,899 » 46,9 »	3,287 » 53,1 »	0,751 g 12,1 %	—	2 grosse Octopus- lebern.
3	360	0,948 g	0,444 » 46,9 »	0,489 » 51,6 »	0,192 » 20,2 »	—	
4	} dasselbe nach 17 Tagen	0,893 »	0,343 » 38,4 »	0,549 » 61,5 »	0,307 » 34,4 »	—	3 Lebern.

Es ergibt sich also ein nach unseren Erfahrungen am Wirbelthier überraschender Befund: Etwas mehr als die Hälfte des Stickstoffs der frischen Leber — die Verarbeitung wurde thunlichst beschleunigt — ist kein coagulirbares Eiweiss; ein Theil ist Pepton, ein Theil gehört offenbar krystallinischen Spaltungsprodukten des Eiweisses an. Daneben können noch Körper ganz anderer Provenienz, z. B. Taurin,<sup>1)</sup> vorhanden sein. Ich dachte zunächst daran, dass das Pepton und die übrigen Körper resorbirtes Verdauungseiweiss seien und liess daher 2 Thiere 9 Tage hungern. Doch gab ihr Leberextract nach Entfernung des Eiweisses ebenfalls eine starke Biuretreaction und einen ebenso reichlichen Phosphorwolframsäureniederschlag wie die Lebern von frisch gefangenen oder gefütterten Thieren. Ich kann daher keine bestimmte Erklärung der Erscheinung geben.

Ich liess dann eine Reihe von Leberextracten bei schwach alkalischer Reaction und Chloroformzusatz stehen. Am 2. oder 3. Tage war die Biuretreaction verschwunden, eine sichtbare Verminderung des Eiweisses trat aber auch in Wochen nicht ein. In einem Falle habe ich den Stickstoffgehalt des Eiweisses, des Filtrates davon und des Filtrates vom Phosphorwolframsäureniederschlag in demselben Extract frisch und nach 17 Tagen bestimmt (s. Tabelle, Zeile 3 u. 4). Es ergibt sich eine deutliche, wenn auch kleine Abnahme des Eiweisses, und besonders eine Zunahme des nicht mit Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffs auf Kosten des Eiweisses und des Peptons. Der

<sup>1)</sup> W. Lindemann, Ziegler's Beiträge, 27, 491, 1900.

Leberextract enthält also ein Ferment — vielleicht auch mehrere —, das Pepton mässig schnell, Eiweiss sehr langsam spaltet. Die geringe Wirksamkeit des Extractes im Verhältniss zum Secret erhellt auch daraus, dass er Fibrinflocken erst in etwa 24 Stunden löst. In einer angesäuerten Probe war die Biuretreaction noch nach 31 Tagen erhalten, in einer angesäuerten und nach 1 Stunde wieder alkalisch gemachten Probe verschwand die Biuretreaction in der gleichen Zeit.

Zur weiteren Charakterisirung des Fermentes, und da ich dessen für die Resorptionsversuche bedurfte, habe ich seine Spaltungsprodukte untersucht. Ich vereinigte mehrere Extracte die 17—32 Tage unter Chloroformzusatz bei Zimmertemperatur gestanden hatten, enteiusste sie durch Kochen mit Essigsäure und fällte das biuretfreie Filtrat mit Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure. Das Filtrat wurde mit Barythydrat von Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure, mit Kohlensäure und dann mit Schwefelsäure fast ganz vom Baryt befreit und eingeengt. Beim Erkalten schied sich in charakteristischen, zum Theil makroskopisch sichtbaren Krystallen Tyrosin ab, das eine äusserst intensive Millon'sche Reaction gab. Das Filtrat davon wurde weiter eingeengt und lieferte darauf eine Krystallhaut, die unter dem Mikroskop ausschliesslich aus Leucinkugeln bestand. Das Leucin wurde aus heissem Wasser umkrystallisirt und durch eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl identificirt.

Berechnet für  $C_6H_{13}NO_2$ :

N = 10,69%.

Gefunden:

N = 10,62%.

Nach den anderen Monaminosäuren habe ich nicht gesucht.

Die Phosphorwolframsäurefällung wurde ganz nach den Angaben von Kossel und Kutscher<sup>1)</sup> auf Hexonbasen verarbeitet. Sie wurde mit Barythydrat zerlegt, mit Kohlensäure vom Baryt befreit, schwach mit Salpetersäure angesäuert und mit der ausreichenden Menge Silbernitrat versetzt. Dabei fiel ein ziemlich reichlicher Niederschlag, der abfiltrirt und nicht weiter untersucht wurde: er musste etwa vorhandene

<sup>1)</sup> A. Kossel und F. Kutscher, diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 165. 1900.

Purinbasen enthalten. Das Filtrat wurde mit Barythydrat gefällt, Fällung und Filtrat mit Schwefelsäure sauer gemacht und mit Schwefelwasserstoff entsilbert. Die Fällung wurde mit Baryt von der Schwefelsäure, mit Kohlensäure vom Baryt befreit, schwach angesäuert und von Neuem mit Silbernitrat und dann vorsichtig mit Barythydrat versetzt. Dabei fiel zunächst Histidin, das in der von Kossel und Kutscher geschilderten Weise gereinigt und in das Chlorid übergeführt wurde. Allerdings war seine Menge sehr gering, und die Krystallisation, die auch bei den anderen Körpern wegen eines allen Niederschlägen anhaftenden dunkelgelben Farbstoffes Schwierigkeiten machte, gelang nicht. Ich glaube aber trotzdem, dass nach den Reactionen — eine organische Base, die von Silber nur bei alkalischer Reaction gefällt wird, die aus silberhaltiger Lösung durch Ammoniak gefällt wird und sich im Ueberschuss des Ammoniaks leicht löst — kein Zweifel sein kann, dass hier wirklich Histidin vorliegt. Nach Entfernung des Histidins wurde durch Sättigung der silberhaltigen Lösung mit Barythydrat das Arginin gefällt, das in der Form seines Nitrates und als Argininsilbernitrat krystallisirte. Aus dem Filtrat von der Arginin und Histidin enthaltenden ersten Silberfällung wurde Lysin in Form seines schön krystallisirenden Pikrates gewonnen und in das ebenfalls krystallisirende Chlorid überführt.

In dem peptonfrei gewordenen Leberextract sind also Leucin, Tyrosin, Lysin, Arginin und Histidin vorhanden. Nach Ammoniak habe ich nicht gesucht, doch deutet der Mindergehalt an Stickstoff, den der Extract nach dem Stehen bei alkalischer Reaction zeigt — Tabelle, Zeile 4 —, vielleicht auf seine Anwesenheit. Von diesen Spaltungsprodukten ist ein Theil schon in der frischen Leber vorhanden — Leucin und Tyrosin fand ich, also dürfen wir die anderen vermuthen —, ein Theil entsteht wohl erst beim Stehen des Extractes aus Pepton und Eiweiss. Das Ferment der Leber der Octopoden liefert also dieselben Spaltungsprodukte, wie sie bisher bei jeder Eiweisspaltung gefunden sind, bei der keine weitere Umwandlung der primären Produkte stattfindet.

Nach diesen selben Spaltungsprodukten müssen wir also im Stoffwechsel dieser Thiere suchen.

Beiläufig erwähnen möchte ich hier noch das constante Vorkommen eines höchst wirksamen Labferments in der Octopodenleber. Frische Milch wird durch den auf Lackmus deutlich alkalisch reagirenden Leberextract fast momentan zur Gerinnung gebracht, ebenso schnell wie durch wirksamen Magensaft. Der gekochte Lebersaft ist unwirksam, Muskel-extract wirkt nicht, der Extract von Darm, Magen und Oesophagus nur ganz unbedeutend. Derartige labende Wirkungen, wenn auch viel schwächer, habe ich übrigens noch in den Därmen mehrerer anderer Wirbelloser gefunden, bei *Sphärechinus granularis*, *Holothuria tubulosa* und *Sipunculus nudus*. Die Function bleibt unklar.

Die Octopodenleber enthält ferner ein starkes diastatisches Ferment, das auch Frédéricq kannte.

#### Resorptionsversuche.

Ich habe den Darmkanal der Thiere herausgenommen und ihn in das durch einen Sauerstoffstrom arterialisirte Blut gelegt. Er bleibt dann bis zu etwa 20 Stunden lebendig und resorbirt.

Das Blut gewann ich nach Frédéricq's<sup>1)</sup> Angaben, indem ich die Thiere auf ein Brett nagelte, den muskulösen Mantel und die Wand des Eingeweidesacks durchschnitt und in die Aorta centralwärts eine Kanüle führte. Die Uexküll'sche Methode<sup>2)</sup> des Fesseln der Thiere, die für vivisectorische Versuche die einzig anwendbare ist, empfahl sich hierfür weniger, da dabei die Arme umschnürt werden und man weniger Blut erhält.<sup>3)</sup> Ich fügte Frédéricq's Verfahren nur noch das hinzu, dass ich auch peripherwärts eine Kanüle in die Aorta band und das Thier gegen Ende des Verblutens mit Seewasser, der «physiologischen Kochsalzlösung» der

1) L. Frédéricq, Arch. de Zool. expériment., VII, 535, 1878.

2) J. v. Uexküll, Zeitschr. f. Biol., Bd. 21, S. 584. 1895. — J. Hyde, Zeitschr. f. Biol., Bd. 35, S. 459. 1897.

3) Vgl. auch M. Henze, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 370. 1901.

wirbellosen Meeresbewohner<sup>1)</sup> durchspülte. Ich erhielt so noch eine grosse Menge allerdings etwas verdünnten Blutes. Ein grosser Octopus liefert 50—80 ccm. unverdünnten, und etwa die gleiche Menge auf das Doppelte verdünnten Blutes, eine mittelgrosse Eledone je 10—20 ccm. Technisch möchte ich bemerken, dass es sich dringend empfiehlt, die Octopoden nicht frisch nach dem Einliefern, sondern erst nach 24 Stunden zu operiren. Man erhält sonst nur wenig Blut, offenbar weil die muskelstarken Thiere bei dem Fange so zugerichtet wurden, dass ihre Herzkraft geschwächt ist. Das im arteriellen Zustande schön blaue Blut enthält eine reichliche Menge von Leucocyten; es erwies sich als zweckmässig, sie abzucentrifugiren, da sie sonst beim Durchleiten des Sauerstoffes ein lästiges Schäumen verursachen.

Frédéricq hat bereits angegeben, dass das Hämocyanin der einzige Eiweisskörper des Octopusblutes ist. Ich kann hinzufügen, dass das Blut auch andere stickstoffhaltige Körper nicht oder nur in Spuren enthält. Ich habe wiederholt im Blut von hungernden und von verdauenden Thieren das Hämocyanin durch Kochen mit Essigsäure entfernt, das Coagulum ausgewaschen und im Filtrat den Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. 10 ccm. enteiweisstes Blut sättigten höchstens 0,5 ccm.  $\frac{1}{10}$  n-Säure ab, einmal fand sich gar keine Verminderung des Titors. Die ausser dem Hämocyanin vorhandene Stickstoffmenge übersteigt also kaum die Fehlergrenzen der Kjeldahl-Methode. Die Verhältnisse liegen also genau wie bei den Säugethieren: das Blut der Octopoden enthält von stickstoffhaltigen Substanzen nur Eiweiss, und auch während der Eiweissresorption kein Spaltungsprodukt desselben. Wir stehen also hier vor der gleichen Schwierigkeit. Der Octopus verzehrt andere Eiweisse, als die seinen Körper aufbauen; diese werden bei der Verdauung in dieselben Spaltungsprodukte zerlegt wie beim Säugethier, im Blute ist aber während der Resorption nichts als das stets vorhandene Bluteiweiss aufzufinden.

<sup>1)</sup> L. Frédéricq, Bull. de la Classe des Sciences de l'Acad. Roy. de Belgique 1901, S. 428.

Wenn das Blut stärker verdünnt zu fließen begann, tödtete ich das Thier und präparirte den Verdauungskanal heraus: da Darm, Magen und Oesophagus dickwandig sind, gelingt das leicht ohne Verletzung. Dann wurde das Aftersende des Darmes und, falls der Kropf mit verwendet wurde, auch die Ausführungsgänge der Speicheldrüsen unterbunden, in den Oesophagus aus einer Bürette die zu resorbirende Flüssigkeit einlaufen gelassen, und endlich auch die obere Oeffnung zugebunden. Den so isolirten Darm legte ich in das Blut und leitete mittelst eines fein ausgezogenen Glasrohres aus einer Bombe Sauerstoff hindurch.

In den ersten Versuchen habe ich meist die Leber in Verbindung mit dem Darm herauspräparirt und sie mit in das Blut gelegt. Dann muss man noch den Ausführungsgang des der Leber aufsitzenden Tintenbeutels unterbinden. Später habe ich versucht, Leberextract von anderen Exemplaren der zu resorbirenden Flüssigkeit beizumengen. Doch starb der Darm dann früher ab, und die Resorption war auffallend gering. Nachdem ich das oben geschilderte Verhalten des Lebersecrets kennen gelernt hatte, benutzte ich stets Thiere im ersten Beginn der Verdauung, deren Leber also mit Secret gefüllt war, presste das Lebersecret durch die Ausführungsgänge in den Darm und band die beiden Gänge dann ab. — Den Kropf, der nicht mitresorbirt (s. die folgende Mittheilung), habe ich bei den Versuchen mitgenommen, bei denen ich die im Darm befindlichen Nahrungsmassen resorbiren lassen wollte, sonst aber abgetrennt.

Der Darm, der Oesophagus und besonders der Magen führten dann recht regelmässige peristaltische Bewegungen aus; es leben also nicht nur die Muskeln, sondern auch die nervösen Centren. Dabei hat der Darm einen starken Sauerstoffverbrauch. Wenn ich die Sauerstoffdurchleitung unterbrach, entfärbte sich das Blut sehr schnell, und wenn ich statt des Sauerstoffs Luft nahm, auch nach einigen Stunden. Um die Stoffwechselintensität und Organthätigkeit möglichst zu steigern, habe ich die Versuche bei etwa 19 bis 20° angestellt und die meisten Ele-done vorher einen oder mehrere Tage in einem Bassin gehalten,

das ich durch Erwärmung des zufließenden Wassers auf etwa 19° brachte, d. h. 5—6° mehr, als das Aquariumwasser hatte. Die Versuche setzte ich meist Nachmittags an und beendete sie im Laufe des folgenden Vormittags, wenn die peristaltischen Bewegungen schwach wurden. Sie dauerten so etwa 18 bis 20, längstens 22 Stunden: nach dieser Zeit waren die Bewegungen immer erloschen; die Muskeln blieben auf mechanischen Reiz etwas länger erregbar.

Zur Resorption verwandte ich nach einigen orientirenden Versuchen mit Jodnatrium und Rohrzucker Pepsin-Pepton aus Casein. Ich verdaute Plasmon, das ja bis auf die anorganischen Salze fast nur aus reinem Casein besteht,<sup>1)</sup> mit 2%iger Oxalsäure und Pepsin aus Schweinemägen 8 Tage in der Wärme, neutralisirte die Lösung durch Kochen mit kohlensaurem Kalk, entfernte die Hauptmenge des in Lösung befindlichen Kalkes mit Oxalsäure und engte stark ein. Es resultirte so eine dicke, braune Flüssigkeit, die auf Lackmus schwach sauer reagirte, keine Oxalsäure, wohl aber noch etwas Kalk enthielt. Halbsättigung mit Ammonsulfat erzeugte einen reichlichen, Sättigung einen stärkeren Niederschlag (primäre und Deuteroalbumosen); die Hauptmasse ging aber ins Filtrat davon über, bestand also aus Pepton. 1 ccm. entsprach 36 mg Stickstoff. Bei einer Verdünnung 1:500 gab die Lösung noch eine schöne Biuret-reaction, dagegen nur mehr eine wolkige Trübung mit Phosphorwolframsäure. Diese Lösung wurde mehr oder weniger stark mit Seewasser verdünnt und dann auf das Volumen des Seewassers eingedampft, sodass ihre Salzzusammensetzung bis auf den etwas höheren Kalkgehalt der des Seewassers, also auch der des Octopodenblutes, entsprach. Meist wurde noch etwas in Seewasser gelöstes Jodnatrium hinzugefügt.

Nach Beendigung der Versuche wurde der Darm herausgenommen und entleert. Er enthielt eine schleimige Flüssigkeit, der Menge nach etwa ebensoviel, wie eingeführt war. Neben Schleim enthielt sie reichlich coagulirbares Eiweiss, ausserdem reichlich Pepton. Nach Leucin und Tyrosin habe

---

1) W. Prausnitz und H. Poda, Zeitschr. f. Biol. Bd. 39, S. 277. 1900.

ich mehrere Male gesucht, doch nur einmal wenig charakteristische Krystalle erhalten; erheblichere Mengen waren jedenfalls nicht vorhanden.

Wichtiger war die Untersuchung der Aussenflüssigkeit, des verdünnten Blutes. Wenn die Durchleitung mit Sauerstoff gut functionirt hatte, war das Blut klar, tiefblau und geruchlos. Von quantitativen Eiweissbestimmungen sah ich von vornherein ab: denn bei der langen und lebhaften Gasdurchleitung gab es durch Verdunstung und Schäumen solche Unsicherheiten in der eiweissreichen Lösung, dass die möglichen kleinen Differenzen ganz dagegen zurückgetreten sein würden. Ich entfernte daher das Eiweiss durch Kochen mit Essigsäure, wobei sich stets eine Verdünnung des Blutes mit destillirtem Wasser auf das 3—6 fache als erforderlich erwies, und untersuchte das Filtrat. Dieses Filtrat nun enthielt beträchtliche Mengen von Stickstoff, der zum Theil durch Phosphorwolframsäure fällbar war, gab aber keine Biuretreaction.

Als Beispiele mögen folgende Versuche dienen, bei denen ich genauere quantitative Bestimmungen gemacht habe, indem ich in einem gemessenen Theile des Filtrats den Stickstoff nach Kjeldahl bestimmte.

Nr.	Datum	Dauer etwa Stunden	Versuchs- thiere	Eingeführte N-Menge mg	Menge des Blutes ccm.	Menge des Stickstoffs im Blute mg	Bemerkungen.
1	16. 3.	20	2 Octopus vulgaris	133	110	65	Im Blut waren Darm, Magen und Leber. Ausser Pepton 2 g Rohrzucker und Jodnatrium. Rohrzucker ganz verschwunden.
2	16. 3.	20	3 Eledone moschata	60	—	32	Darm und Magen ohne Leber. Rohrzucker im Darm nachweisbar, aussen nicht.
3	26. 3.	17	1 grosser Oct. vulg.	—	50	95	Darm, Magen, Kropf und Leber. Jodnatrium nicht ganz resorbirt.
4	5. 4.	23	1 Octopus vulgaris	330	57	34	Darm und Magen. 0.4 g Jodnatrium ganz resorbirt.
5	12. 4.	22	1 Octopus vulgaris	—	90	60	Nichts eingeführt. Fressend getödtet.
6	20. 4.	22	1 Oct. vulg. 3 Eled. msch.	—	60	69	Därme und Mägen. Blut enthielt vorher 7 mg N.

Wie man sieht, sind von den Därmen nicht ganz unbedeutende Stickstoffmengen resorbiert worden. Sie bestehen nicht aus Pepton, da schon sehr viel weniger Pepton eine deutliche Biuretreaction geben würde. Dagegen fiel die Millon'sche Reaction positiv aus, was um so mehr sagen will, als sie wegen des störenden Kochsalzgehaltes in den verdünnten Filtraten angestellt werden musste. Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure erzeugten in den Filtraten, die auf die ursprüngliche Concentration des Blutes eingeeengt wurden, einen starken Niederschlag, der in seinem Aussehen dem der Hexonbasen und nicht dem von Peptonniederschlägen gleich. Es war also sehr wahrscheinlich, dass ich hier das Gemenge der krystallinischen Eiweisspaltungsprodukte vor mir hatte, und ich habe mich bemüht, sie darzustellen. Ich brachte zu diesem Zwecke die Lösung auf 5%ige Schwefelsäure und fällte mit Phosphorwolframsäure. Das Filtrat befreite ich mit Barythydrat von der Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure, mit Kohlensäure von Baryt, dampfte zur Trockne ein, nahm mit kochendem Wasser auf und engte von Neuem ein. Dabei schied sich stets reichlich Kochsalz aus, hatte ich doch von vornherein Meerwasser vor mir. Ich dampfte daher nochmals zur Trockne ein und extrahirte den Salzbrei mehrmals mit siedendem, verdünntem Alkohol. Aus diesem schied sich beim Eindampfen Leucin und Tyrosin in charakteristischen, gut ausgebildeten Krystallen ab. Zur Analyse reichte leider die Menge nicht hin: doch glaube ich, dass auch ohnedies kein Zweifel an der Identität der beiden Monoamidosäuren bestehen kann.

Den Phosphorwolframsäureniederschlag zerlegte ich mit Barythydrat und behandelte ihn nach Kossel und Kutscher. Von einer Reindarstellung und Analysirung der einzelnen Produkte konnte natürlich bei den geringen Mengen nicht die Rede sein: doch kann ich Folgendes aussagen:

In dem von Silber, Schwefelsäure und Baryt befreiten Filtrat vom Argininniederschlag, in dem also eventuell kohlen-saures Lysin zu erwarten war, erzeugte in den 3 Fällen, in denen ich den Versuch machte, alkoholische Pikrinsäurelösung einen krystallinisch aussehenden Niederschlag, der sich im

Ueberschuss der Pikrinsäure leicht löste. Und als ich die durch Silbernitrat und Baryt erzeugte, von Silber, Schwefelsäure und Baryt befreite Fällung, die also kohlen-saures Arginin enthalten musste, mit Salpetersäure versetzte, krystallisirte die Lösung im Vacuumexsiccator bei beiden Versuchen vollständig aus. Als ich die Krystalle in Wasser löste, gaben Schwefel- und Phosphorwolframsäure einen krystallinisch aussehenden, in der Hitze verschwindenden Niederschlag. Ich glaube daher, dass das Auftreten von Lysin und besonders Arginin so gut wie sicher ist.

Endlich habe ich einen Theil der Lösung von Versuch 6 in dem Apparate von Nencki und Zaleski<sup>1)</sup> bei 38° im Vacuum unter Zusatz von Baryumcarbonat destillirt und fand so 4,6 mg Ammoniak. Erheblichere Ammoniakmengen treten nicht auf. Ich habe mehrmals den durch Blut strömenden Sauerstoff nachher durch Schwefelsäure geleitet, aber niemals eine Abnahme des Titors gefunden, sodass das alkalische Blut keine grösseren Mengen von flüchtigen Basen enthalten kann.

Unter den angegebenen Bedingungen resorbirt der Darm der Octopoden eingeführtes Pepton also nicht als solches, sondern in Form seiner krystallinischen Spaltungsprodukte, von denen ich mit Sicherheit oder doch nahezu voller Sicherheit Leucin, Tyrosin, Lysin, Arginin und Ammoniak nachweisen konnte.

Es fragt sich nun nur noch, ob aus diesen Versuchen ein Schluss auf das gleiche Verhalten im lebenden Körper gestattet ist. Ich glaube es aus folgenden Gründen:

1. Die spontanen Bewegungen des Darmes beweisen, dass seine Muskeln und die sie versorgenden Nervencentren noch leben.

2. Der entscheidende Beweis liegt in der Resorption von Jodnatrium, die ich in der unmittelbar auf die vorliegende folgenden Mittheilung bespreche. Daraus, dass eingeführtes Jodnatrium vollständig jenseits des Darmes erscheint, und im

---

<sup>1)</sup> M. Nencki und J. Zaleski, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 193. 1901.

Innern des Darmes gar nicht mehr nachzuweisen ist, geht hervor, dass es von dem Epithel transportirt worden ist; das Epithel leistet also Resorptionsarbeit.

3. Man könnte einwenden, dass die krystallinen Spaltungsprodukte deshalb jenseits der Darmwand erscheinen, das Pepton aber nicht, weil sie viel schneller diffundirten. Ich füllte daher ein Gemenge von Caseinpepton und krystallinen Spaltungsprodukten aus Blutfibrin in Holothuriendärme, von denen ich früher gezeigt habe,<sup>1)</sup> dass ihre Resorption nur durch Diffusion geschieht, und legte die Därme in Seewasser. Das Pepton konnte in dem Seewasser durch die Biuretreaction ebenso früh nachgewiesen werden, wie die Basen durch die Phosphorwolframsäurefällung.

4. Durchaus in diesem Sinne sprechen auch die Beobachtungen bei misslungenen Versuchen. Ich habe mehrmals erlebt, dass die Sauerstoffdurchleitung ungenügend war, oder die Temperatur zu hoch stieg, oder der Versuch zu lange lief, sodass der Darm abstarb. Auch die oben erwähnten Versuche, bei denen ich Leberextract in den Darm füllte, gehören hierher.

Alsdann fand sich immer dreierlei vereinigt:

Erstens hatten die peristaltischen Bewegungen aufgehört; zweitens war Jodnatrium aussen und innen vorhanden, die Resorption war also nicht vollständig, oder es hatte eine Rückdiffusion stattgefunden, und drittens trat im Blutfiltrat die Biuretreaction auf. Der Darm verhielt sich dann eben wie eine tote Membran, die dem Jodnatrium nach beiden Seiten den Durchtritt gestattet und die das Pepton passiren lässt.

Die oben beschriebene Resorption ist also eine Eigenschaft des lebenden Darmes.

Endlich seien noch einige Versuche angeführt, die sich gegen mögliche Einwände richten. Ich habe mehrere Lebern von nüchternen und verdauenden Thieren unter den gleichen Bedingungen wie die Därme in Blut gelegt, das Blut enthielt aber am nächsten Tage nach der Enteiweissung keine mit Phosphorwolframsäure fällbaren Körper, die demnach nicht

<sup>1)</sup> O. Cohnheim, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 9. 1901.

etwa aus der Leber oder aus einer Zerspaltung des Bluteiweisses stammen. Dann habe ich mehrere Därme von Eledone mit Stärkekleister gefüllt, Lebersecret hereingepresst und sie in 26 ccm. Blut gelegt. Am nächsten Tage gab das enteweisste Blut keine Fällung mit Phosphorwolframsäure und enthielt in 10 ccm. nur 0,7 mg Stickstoff, d. h. nicht mehr als frisches Blut auch.

Als ich mehrere Male statt des Peptons die krystallinischen Spaltungsprodukte, die ich durch 20stündiges Kochen von trockenem «Blutfibrin» von Merck mit 33%iger Schwefelsäure gewonnen hatte, resorbiren liess, konnte ich, wie bei den Peptonversuchen, im Blut Leucin, Tyrosin und durch Phosphorwolframsäure fällbare Körper nachweisen. Und dasselbe war der Fall, als ich einmal 2 Eledone und einmal 1 Octopus mit Krabben fütterte und einige Zeit darauf den überall zugebundenen, mit Krebsresten gefüllten Darm ohne weiteren Zusatz resorbiren liess. Der erste Versuch ist oben unter Nr. 5 angeführt, bei dem anderen waren 14 mg Stickstoff resorbirt worden. Kohlehydrate waren bei diesen Versuchen im Blut nicht vorhanden, und bei einigen Versuchen mit Rohrzucker war dieser ganz oder fast ganz verbrannt worden.

Ich fasse die Resultate zusammen:

1. Die Eiweissverdauung der Octopoden liefert die gleichen Produkte, wie die der Säugethiere.

2. Im Blut der Octopoden sind auch in voller Verdauung weder diese noch andere stickstoffhaltige Körper ausser dem Hämocyanin nachzuweisen.

3. Unter geeigneten Bedingungen gelingt es, die Eiweissresorption am isolirten Darm zu beobachten. Sie erfolgt in Form der krystallinischen Spaltungsprodukte.

Dass dies Letztere auch für die Wirbelthiere gilt, ist natürlich nicht bewiesen. Indessen dürfte bei der grossen Aehnlichkeit aller Verhältnisse diese Möglichkeit von allen vorliegenden die wahrscheinlichste sein.

---