

Die Endprodukte der Pankreas- und Hefeselbstverdauung.

Mitteilung I.

Von

Fr. Kutscher und **Lohmann.**

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Marburg.)

Der Redaktion zugegangen am 29. Juni 1903.

Das Pankreas ist zweifellos das Organ, welches die meisten und kräftigsten der hydrolytisch-spaltenden Enzyme liefert. Es gibt bekanntlich das eiweißspaltende Trypsin, das Fette zersetzende Steapsin und die die Kohlehydrate zerlegende Diastase. Wenn wir die Pankreasdrüse der Selbstverdauung überlassen, dann werden die in ihr enthaltenen Enzyme die Bestandteile der Drüse angreifen. Da unter diesen Umständen reichliche Mengen Enzym auf beschränkte Massen zersetzbarer Substanz wirken, sind die Bedingungen für die völlige Aufspaltung der durch die oben genannten Enzyme angreifbaren Drüsenbestandteile möglichst günstige.

Die Bauchspeicheldrüse ist daher besonders geeignet zum Studium von Vorgängen, die sich auch bei der Selbstverdauung der übrigen Körperorgane bald mehr, bald weniger ausgesprochen wiederholen müssen; und die aus der Selbstverdauung der Bauchspeicheldrüse abgeleiteten Resultate werden sich großenteils ohne weiteres für die Autodigestion der übrigen Organe verwerten lassen.

Von diesen Gesichtspunkten geleitet, haben wir von neuem das Studium der krystallinischen Endprodukte, die bei der Pankreasselbstverdauung entstehen, aufgenommen. Wir sind dabei schnell auf einen Körper gestoßen, der bisher aus pankreatischen Verdauungsflüssigkeiten nicht isoliert worden

ist, nämlich auf das Cholin. Bei seiner Isolierung gingen wir wie folgt vor:

Darstellung des Cholins.

Vollkommen frische, eben dem Tiere entnommene Bauchspeicheldrüsen wurden schnell und möglichst vollkommen vom anhaftenden Fett etc. befreit, in der Fleischmaschine zerkleinert und sofort in Chloroformwasser¹⁾ aufgeschwemmt. Es wurden auf 1 Gewichtsteil Drüse annähernd 2 Gewichtsteile Wasser genommen. Das Ganze wurde in Flaschen gefüllt, ein großer Überschuß von Chloroform zugegeben und die wohlgeschlossenen Flaschen in einen auf 37° C. eingestellten Brutschrank gebracht. Die Verdauungsflüssigkeiten wurden von Zeit zu Zeit umgeschüttelt und polarisiert. Sobald die Drehung²⁾ konstant geworden war, wurde der Versuch abgebrochen. Die Verdauungsflüssigkeit wurde nunmehr vom Ungelösten abfiltriert. Das Filtrat, das in allen Fällen schwach sauer reagierte,³⁾ wurde aufgeköcht und auf freier Flamme eingeeengt. Von dem ausgeschiedenen Fett, Tyrosin etc. wurde abgesaugt, das neue Filtrat mit Barytwasser ausgefällt. Die in reichlicher Menge ausfallenden Phosphate wurden ebenfalls durch Filtration beseitigt, in die filtrierte Flüssigkeit Kohlensäure eingeleitet, vom abgeschiedenen kohlensauren Baryt abgemutscht und das so erhaltene Filtrat eingeeengt, bis Leucin auszukrystallisieren begann. Nunmehr wurde Wasser zugegeben, bis sich das Leucin wieder gelöst hatte. Die Flüssigkeit wurde darauf mit Salpetersäure schwach angesäuert und mit konzentrierter Silbernitratlösung ausgefällt. Wir wollen diese Fällung I, die die Alloxurbasen enthalten muß, als Fraktion der Alloxurbasen bezeichnen.

I. Fraktion der Alloxurbasen.

Fällung I wurde abgesaugt und für eine spätere Verarbeitung zunächst beiseite gestellt. Das Filtrat von Fällung I

¹⁾ Salkowski, Deutsche med. Wochenschrift 1888, Nr. 16.

²⁾ Siehe Gürber, Festschr. der phys. med. Ges. Würzburg 1899. Wir verweisen besonders auf die Arbeit Gürbers, weil in ihr alle Möglichkeiten erörtert werden, die die Drehung der Verdauungsflüssigkeiten beeinflussen können.

Wir haben die Verdauungsflüssigkeit niemals mit Natriumcarbonat alkalisiert.

wurde mit Silbernitratlösung versetzt, bis eine Probe in gesättigter Barytlösung neben weißen Silberverbindungen gleichzeitig braunes Silberoxyd fallen ließ. Darauf wurde der gesättigten Flüssigkeit so lange Barytwasser zugegeben, als eine Probe mit ammoniakalischer Silberlösung deutlichen Niederschlag lieferte. Die auf diese Weise erzeugte Fällung II wollen wir als Histidinfraktion bezeichnen, da sie das Histidin enthalten muß.

II. Histidinfraktion.

Die Fällung II wurde abgesaugt. Wir werden sie später nach dem von Kutscher und Seemann¹⁾ ausgearbeiteten Verfahren aufteilen. Das Filtrat von Fällung II wurde mit Baryt in der Kälte gesättigt. Die dadurch erzielte reichliche Fällung III wollen wir die Argininfraktion nennen.

III. Argininfraktion.

Fällung III enthält, wie zahlreiche Versuche dem einen von uns gezeigt haben, in der Tat nichts weiter als Arginin. Das von Fällung III erhaltene Filtrat wurde zur weiteren Verarbeitung in der Kälte mit Schwefelsäure und Salzsäure stark übersäuert. Das ausgeschiedene Chlorsilber und Baryumsulfat durch Filtration entfernt und das klare Filtrat mit Phosphorwolframsäure ausgefällt, bis eine Probe auf erneuten Zusatz des Fällungsmittels nicht mehr momentan, sondern erst nach einiger Zeit einen Niederschlag abschied. Diese neue Fällung IV wollen wir als Lysinfraktion bezeichnen.

IV. Lysinfraktion.

Fällung IV wurde abgesaugt, sorgfältig mit 5%iger Schwefelsäure ausgewaschen und mit Baryt zersetzt. Von den unlöslichen Barytverbindungen wurde abgesaugt, das Filtrat mit Kohlensäure vom überschüssigen Baryt befreit, zum dünnen Sirup eingeengt und aus demselben nach den Angaben Kossel's²⁾ das Lysin mit alkoholischer Pikrinsäurelösung abgeschieden. Nach 24 Stunden wurde das ausgefallene Pikrat abgesaugt und mit absolutem Alkohol mehrmals ausgekocht. Das Filtrat wurde mit dem Alkohol, der zum Auskochen des Pikrates gedient hatte, vereinigt. Auf dem Wasserbade wurde der Alkohol ver-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXV, S. 432.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXVI, S. 568.

ragt. Es hinterblieb ein zäher Sirup. Derselbe wurde mit warmem Wasser aufgenommen, mit Salzsäure im Überschuß versetzt. Danach schieden sich geringe Mengen schmieriger Massen ab. Von denselben wurde abgegossen und die Flüssigkeit durch Äther von Pikrinsäure völlig befreit. Darauf wurde sie auf dem Wasserbade zum Sirup eingeeengt, derselbe wurde mit Wasser aufgenommen, mit guter Tierkohle entfärbt und die erhaltene Flüssigkeit von neuem bis zum Sirup abgedampft. Nunnmehr wurde er mit absolutem Alkohol aufgenommen. Die alkoholische Lösung versetzten wir mit alkoholischer Quecksilberchloridlösung im Überschuß. Es entstand sofort ein reichlicher krystallinischer Niederschlag. Nach 24 Stunden wurde derselbe abgesaugt, mit Alkohol gewaschen, in heißem Wasser gelöst und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Das Filtrat vom Schwefelquecksilber gab nach dem Einengen einen in Alkohol leicht löslichen Sirup. Zur weiteren Verarbeitung wurde die alkoholische Lösung des Sirups mit alkoholischer Platinchloridlösung versetzt. Es fiel sogleich ein Platinat aus, das in Alkohol unlöslich, in Wasser sehr leicht löslich war. Es wurde schließlich aus heißem wässerigen Alkohol umkrystallisiert, bei 120° C. zur Gewichtskonstanz gebracht und analysiert. Die Analyse zeigte, daß wir Cholinplatinat in Händen hatten. Außer dem Cholin steckte in der Quecksilberfällung keine andere Base.

Wir haben den Versuch viermal mit gleichem Erfolg wiederholt.

Beim ersten Versuch benutzten wir Schweinepankreas. Das Gewicht der verarbeiteten Bauchspeicheldrüsen ist nicht festgestellt worden. Wir erhielten daraus 1,67 g Cholinplatinat.

0,1715 g Platinat gaben 0,055 Pt.

0,2809 g Platinat gaben 12,2 ccm N. $T = 16^{\circ}$ C. $Ba = 754$ mm.

Für $C_5H_{14}NOCl_2 + PtCl_4$:

Ber. Pt. = 31,64% ; N = 4,56% . Gef. Pt. = 31,52% ; N = 5,05% .

Zum zweiten Versuch dienten Hundepankreas. Ihr Gewicht ist nicht festgestellt worden. Wir erhielten daraus 1,52 g Cholinplatinat. Dasselbe gab bei der Analyse = 31,33% Pt.

Beim dritten Versuch verwandten wir 1700 g Schweinepankreas. Sie gaben 2,95 g Cholinplatinat Pt. = 31,75% .

Zum vierten Versuch benutzten wir 2600 g Schweinepankreas. Sie gaben 7,86 g Cholinplatinat. Darin Pt. = 31,72% (0.1)

Über die Muttersubstanz, der das Cholin, das wir gefunden haben, entstammt, kann kein Zweifel bestehen. Wir haben sie im Lecithin zu suchen, welches ja als ständiger Bestandteil lebenskräftiger Zellen auch in den frischen Bauchspeicheldrüsen enthalten und hier unter der Einwirkung der pankreatischen Enzyme gespalten sein muß. Wir müssen allerdings die Frage noch offen lassen, welches der Enzyme die Spaltung besorgt hat. Merkwürdigerweise liegt über das Verhalten des Lecithins, dieses wichtigen Zellbestandteiles, gegen Verdauungsenzyme nur eine Arbeit, von Bokay²⁾, vor, deren Wert beschränkt ist, weil Bokay bei seinen Versuchen die Fäulnis nicht ausgeschlossen hat. Wir lassen die hier interessierenden Angaben Bokays wörtlich folgen, Bokay sagt:

Das Lecithin wird durch das Pepsin nicht schnell angegriffen, ebenso wie das Nuclein: länger in der sauren Flüssigkeit gehalten, sah ich Zersetzung eintreten, dies ist aber offenbar der Wirkung der Magensäure zuzuschreiben. Säuren zersetzen bekanntlich das Lecithin. Das Verhältnis des eben genannten Stoffes gegen Trypsin ist von dem des Nucleins verschieden, aber nur allmählich sieht man Spaltung der Substanz eintreten, wenn sie 8—10 Stunden lang im Brütöfen gelassen wird: Fäulnis ist also nicht ausgeschlossen. Nach diesen negativen Resultaten lag es am nächsten, das Fette zerlegende Ferment der Bauchspeicheldrüse in den Kreis der Untersuchungen zu ziehen, da das Lecithin, nach seiner chemischen Konstitution betrachtet, den Fetten sehr nahe steht und möglicherweise eine Stufe zur Bildung der letzteren sein kann, wie Hoppe-Seyler bemerkt.

¹⁾ Unter der Voraussetzung, daß in diesem wohl gelungenen Versuche das gesamte Lecithin zerlegt worden ist, würde sich aus dem gewinn gefundenen Cholin für das lebendfrische Schweinepankreas ein Lecithingehalt von 0,8% berechnen. Das Lecithin ist dabei als Distearyllecithin angenommen.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. I, S. 162.

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

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

Außer diesen knappen Angaben gibt es, wie bereits gesagt, unseres Wissens keine anderen, die das Verhalten des Lecithins gegen die verschiedenen Verdauungsflüssigkeiten erörtern. Wir haben daher das Verhalten des Lecithins gegen Magen-, Pankreas- und Darmsaft einer erneuten Untersuchung unterzogen, über die wir demnächst zu berichten gedenken.

Die gleichen Methoden, welche wir zur Untersuchung der pankreatischen Verdauungsflüssigkeit benutzt haben, werden wir anwenden, um die krystallinischen Verdauungsprodukte der der Autodigestion überlassenen Hefe weiter aufzuteilen.

Die Arbeit wurde mit Mitteln ausgeführt, die dem einen von uns (Kutscher) aus der Stiftung der Gräfin Bose gewährt worden sind.