

Die Endprodukte der Pankreas- und Hefeselbstverdauung.

Mitteilung II.

Von

Kutscher und Lohmann.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Marburg.)

(Der Redaktion zugegangen am 21. Juli 1903.)

Bekanntlich verläuft die Selbstverdauung der getöteten Hefezellen durchaus gleichartig jener, die man an toten unter Chloroformwasser¹⁾ gehaltenen Pankreaszellen beobachten kann. Dies haben eingehende Versuche des Einen von uns (Kutscher)²⁾ erwiesen. Wir stellen tabellarisch gegenüber die Verdauungsprodukte, die bisher sicher bei der Autodigestion des Pankreas und der Hefe unter gleichen Bedingungen erhalten worden sind.

Bei der Selbstverdauung des Pankreas entsteht.	Bei der Selbstverdauung der Hefe entsteht.
Guanin, reichlich	Guanin, reichlich
Adenin „	Adenin „
Xanthin, wenig	Xanthin, Spuren
Hypoxanthin „	Hypoxanthin „
Histidin	Histidin
Arginin	Arginin
Lysin	Lysin
Leucin	Leucin
Tyrosin	Tyrosin
Asparaginsäure	Asparaginsäure
Glutaminsäure	Glutaminsäure, bisher nicht
Ammoniak, wenig	[nachgewiesen Ammoniak, wenig

Die vorstehende Tabelle spricht, wie wir glauben, deutlicher als lange Beweisgründe. Es ließ sich daher ver-

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

²⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXXII, S. 59.

muten, daß auch die Spaltung des Lecithins¹⁾ in den Hefezellen sich in derselben Weise wie in den Pankreaszellen vollziehen und unter den krystallinischen Endprodukten der Hefeselbstverdauung Cholin auftreten würde. In der Tat hat sich das Cholin aus der Verdauungsflüssigkeit der der Autodigestion unterworfenen Hefe darstellen lassen.

Die Isolierung des Cholins.

Es wurden fünf Liter völlig frischer, untergäriger Hefe, die aus einer hiesigen Brauerei bezogen waren, sorgfältig mit Eiswasser durch Dekantation ausgewaschen, in 10 Liter Chloroformwasser aufgeschwemmt und nach Zugabe eines reichlichen Überschusses von Chloroform in einen auf 37° C. eingestellten Brutschrank gebracht. Um die Verdauung zu beschleunigen, wurden die Massen öfters umgeschüttelt. Nach zehn Tagen zeigte das Konstantbleiben der Drehung, die an der polarisierten Verdauungsflüssigkeit beobachtet wurde, das Ende der Verdauung an. Die Verdauungsflüssigkeit gab noch sehr starke Biuretreaktion, doch waren wir durch äußere Gründe gezwungen, sie zu verarbeiten.

Es wurde dazu die Verdauungsflüssigkeit von den am Boden des Gefäßes abgesetzten Hefezellen abgehebert und mit Barytwasser ausgefällt. Die starke Fällung von phosphorsaurem Baryt wurde abgesaugt, in das Filtrat Kohlensäure eingeleitet, um den überschüssigen Baryt zu entfernen, und nunmehr die Flüssigkeit stark eingeengt. Nach 24 Stunden wurde das auskrystallisierte Tyrosin etc. abgesaugt. Das neue Filtrat säuerten wir mit Salpetersäure schwach an und versetzten es mit starker Silbernitratlösung, bis eine Probe der Flüssigkeit, in gesättigtes Barytwasser gebracht, sofort einen braunen Niederschlag fallen ließ. Ohne die bei schwach saurer Reaktion der Flüssigkeit entstandene Fällung weiter zu beachten, wurde die ganze Flüssigkeit sofort mit Baryt gesättigt. Die ausgeschiedenen Silberver-

¹⁾ Durch Hoppe-Seyler ist der Lecithingehalt der Hefezellen bekannt geworden. Mediz.-chem. Untersuchungen, Heft 1, S. 142. Diese Zeitschr., Bd. II, S. 427. Theodor Sedlmayr, Beiträge zur Chemie der Hefe. Z. f. d. ges. Brauw., 26, 381.

bindungen wurden durch Filtration entfernt. Sie mußten enthalten: die Alloxurbasen, das Histidin, Thymin, Uracil, Cytosin und Arginin. Das Filtrat von den Silberverbindungen der genannten Körper wurde in der Kälte mit Salzsäure und Schwefelsäure zur Entfernung des Silbers und Baryts versetzt. Das ausgefallene Chlorsilber und Baryumsulfat wurde durch Filtration fortgeschafft, das klare Filtrat mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Die Fällung bildet die Lysinfraktion.

Lysinfraktion.

Bei der Verarbeitung der Lysinfraktion gingen wir genau so vor, wie bei der aus selbstverdauten Bauchspeicheldrüsen gewonnenen Lysinfraktion.¹⁾ Wir zersetzen also die Phosphorwolframsäurefällung mit Baryt, fällten das Lysin nach den Angaben Kossels²⁾ durch Pikrinsäure aus, entfernten aus dem Filtrat vom Lysinpikrat die Pikrinsäure durch Salzsäure und Äther, schieden dann aus demselben das Cholin zunächst als Quecksilberchloridverbindung ab, die wir weiterhin in das Platinat überführten. Dasselbe wollte jedoch aus seiner wässrigen Lösung nicht krystallisieren, sondern trocknete auch nach Behandlung mit Tierkohle nur zu einem Lack ein. Wir nahmen es daher mit wenig Wasser auf und fällten, ohne vorher das Platin zu entfernen, mit konzentrierter wässriger Goldchloridlösung. Die ersten Tropfen der zugefügten Goldchloridlösung wurden sofort reduziert, dann aber fiel auf weitere Zugabe von Goldchlorid in dichten Wolken ein schwer lösliches Goldsalz. Dasselbe wurde schnell abgesaugt und aus heißem Wasser umkrystallisiert. Bei der Analyse gab es Zahlen, die für Cholingoldchlorid stimmten. Außer Cholin war bei der Hefe in die Quecksilber- und Platinfällung ein zweiter Körper eingegangen, der die Krystallisation des Cholinplatinates verhindert hatte. Analyse: 0,1934 g der Goldverbindung gaben 0,0862 g Au = 44,57% Au. Für $C_5H_{14}NOCl \cdot AuCl_3$ ber. Au = 44,49%. Die Ausbeute hatte 2,35 g betragen.

Es entsteht demnach bei der Autodigestion der Hefe

¹⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXXIX, S. 161.

²⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXVI, S. 586.

zweifellos Cholin und die der Selbstverdauung unterworfenen Hefezellen verhalten sich also auch bezüglich der Bildung dieses Körpers durchaus wie die gleichartig behandelten Zellen der Bauchspeicheldrüse.

Wir wollen nunmehr über einen Versuch berichten, den wir angesetzt hatten, um das Verhalten lecithinreicher Substanzen gegen die Enzyme des Magens zu proben. Es wurde zunächst das Gelbe von 5 Eiern sorgfältig von dem Eiweiß getrennt und mit 800 ccm Chloroformwasser verrieben. Wir schabten weiter mit einem Skalpell die Magenschleimhaut von zwei frisch getöteten, in Verdauung befindlichen Schweinen ab, verrieben die so erhaltenen Massen mit 200 ccm Chloroformwasser und mischten sie dem Eigelb zu, nachdem wir noch einige Messerspitzen Calciumcarbonat beigegeben hatten. Das Ganze wurde 24 Stunden bei 37° C. im Brutschrank gelassen. Nach dieser Zeit prüften wir, ob Cholin in der Verdauungsflüssigkeit sich nachweisen ließ. Wir gingen dabei so vor, daß wir die Flüssigkeit vom Ungelösten abgossen, den Bodensatz einige Male mit destilliertem Wasser durch Dekantation auswuschen, die gesamte Flüssigkeit mit Salzsäure schwach ansäuerten, filtrierten und das Filtrat auf dem Wasserbade abdampften. Der Rückstand wurde mit Alkohol extrahiert. Der alkoholische Extrakt wurde wieder zur Trockne verdunstet, mit etwas Wasser aufgenommen, mit Tierkohle entfärbt, danach von neuem eingetrocknet, wieder mit Alkohol aufgenommen und mit alkoholischer Quecksilberchloridlösung gefällt. Aus der mit Schwefelwasserstoff zersetzten Quecksilberfällung versuchten wir dann das Cholinplatinat darzustellen. Neben kleinen Massen eines in Wasser schwer löslichen Platinates vermochten wir nur sehr geringe Mengen eines Platinats zu gewinnen, das die Eigenschaften und den Schmelzpunkt des Cholinplatinates zeigte. Da fünf Eigelb nach den Angaben von Parke²⁾ 1,45 g salzsaures Cholin liefern, so können nur sehr geringe Mengen des

¹⁾ Inzwischen ist uns von der chemischen Fabrik F. D. Riedel, Berlin, in bereitwilligster Weise reines Lecithin für unsere Versuche zur Verfügung gestellt worden. Wir werden dasselbe demnächst verwenden.

²⁾ Hoppe-Seyler, *Physiol. Chemie*, S. 782.

im Eigelb vorhandenen Lecithins durch die Enzyme des Magens bei neutraler Reaktion der Verdauungsflüssigkeit gespalten werden. Den gleichen Versuch werden wir mit salzsaurem Magensaft wiederholen.

Wir haben schließlich noch einen Versuch mit der Autodigestion eines lecithinreichen Organes, nämlich eines Ochsengehirns, gemacht. Wir gingen dabei eigentlich von der Vermutung aus, in einem derartigen Organ auf ein Enzym zu stoßen, das leicht und schnell das Lecithin zerlegen würde. Wir wurden jedoch durch den Erfolg des Versuchs vollkommen enttäuscht. Wir schildern kurz die Anordnung und die Ergebnisse des Versuches. Ein lebendfrisches Ochsengehirn von 260 g Gewicht wurde äußerlich mit destilliertem Wasser abgewaschen, von den Gehirnhäuten möglichst befreit und in einem Liter Chloroformwasser verrieben. Nachdem die Verdauungsflüssigkeit konstante Drehung zeigte, gossen wir die Flüssigkeit vom Ungelösten ab, dekantierten den Rückstand mehrfach mit destilliertem Wasser und engten die gewonnenen Flüssigkeiten auf dem Wasserbad ein. Dabei schieden sich koagulierte Eiweißkörper in recht beträchtlicher Menge ab. Von diesen wurde abfiltriert und das neue Filtrat behandelt, wie wir es mit den bei der Autodigestion der Bauchspeicheldrüsen erhaltenen Verdauungsflüssigkeiten getan hatten. Wir fällten also das Filtrat zunächst mit Baryt aus, um die Phosphate zu entfernen, und versuchten dann durch Silbernitrat, Baryt und Phosphorwolframsäure die entsprechenden Fraktionen zu erzeugen. In der Fraktion der Alloxurbasen fand sich nur Chlor, die Histidinfraktion und die Lysinfraktion entstand überhaupt nicht. Es war also aus dem Lecithin des Gehirns auch kein Cholin frei geworden oder, was dasselbe heißt, es war kein Lecithin zersetzt worden. Nur in der Argininfraktion erhielten wir eine geringe Fällung, aus der wir kleine Mengen basisch reagierender organischer Substanz zu isolieren vermochten. Demnach scheint sich im Gehirn des Ochsen ein lecithinspaltendes Enzym nicht zu finden. Auch die proteolytischen Enzyme, die sich vielleicht im Gehirn finden, scheinen das gelöste Eiweiß, unserem Versuch nach zu urteilen, wenig zu verändern.
