

Über das Erepsin.

Von
Dr. M. Nakayama.

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität zu Kyoto.)
(Der Redaktion zugegangen am 18. März 1904.)

Die Untersuchungen Cohnheims¹⁾ ergaben, daß im Preßsaft aus der Schleimhaut des Dünndarms vom Hunde und von der Katze ein höchst merkwürdiger Körper vorkommt, der gar keine verdauende Wirkung auf die genuinen Eiweißstoffe ausübt, dagegen die Peptone in kristallisierende Produkte, wie Leucin, Tyrosin, Arginin und Histidin etc., umzuwandeln vermag, und den Cohnheim Erepsin genannt hat. Die Entdeckung des Erepsins ist für die Verdauung und die Resorption des Eiweißes von großer Bedeutung; denn sie macht die Ansicht, daß das Verschwinden der Peptone jenseits des Darms auf die direkte Rückbildung von Eiweiß zu beziehen ist, hinfällig und es muß vielmehr angenommen werden, daß bei der Resorption der Peptone im Dünndarme ein völliger Zerfall derselben und ein Aufbau des Eiweißes aus Zerfallsprodukten statthaben können.

Die Autoren, welche die Angaben Cohnheims der Nachprüfung unterzogen hatten, stimmen darin überein, daß der Darmsaft resp. der Darmauszug spaltend auf die Peptone einwirkt; dagegen über die Frage, ob diese peptonspaltende Wirkung einem spezifischen Enzym, dem Erepsin, zukommt oder dem an der Darmwand anhaftenden Trypsin zuzuschreiben ist, gehen die Ansichten ziemlich weit auseinander.

S. Salaskin²⁾ mischte Amphopepton oder Deuteroalbumosen mit reinem Darmsaft von Hunden und digerierte die Gemische bei schwach alkalischer Reaktion in Gegenwart von

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 454.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXV, S. 419.

Thymol und Chloroform 24 bis 68 Stunden im Brutschrank. Er konnte nun mit Sicherheit Leucin und Tyrosin unter den Digestionsprodukten nachweisen.

Lambert¹⁾ zeigte, daß das Erepsin nicht allein Peptone zerlegt, sondern auch das koagulierte Eiereiweiß angreift. Daß aber die letztere Wirkung sehr unbedeutend ist, geht aus der folgenden Angabe von Lambert hervor: «Cette attaque n'est pas appréciable de visu, mais se manifeste par l'apparition, dans le liquide, de substances donnant une réaction du biuret peu intense, mais nette».

N. Sieber und C. Schoumoff-Simonowski²⁾ studierten die Einwirkung des Erepsins und des reinen Darmsaftes von Hunden auf Toxine und Abrin und kamen zu dem Schluß, daß das Erepsin und der Darmsaft kaum imstande sind, Abrin und Tetanustoxin zu zerstören, während dieselben mehr oder weniger abschwächend auf das Diphtherietoxin einwirken. Wenn wir auch weit davon entfernt sind, auf Grund dieser Beobachtungen das Diphtherietoxin mit Deuteroalbumosen oder Peptonen für identisch zu halten, so läßt sich doch annehmen, daß in bezug auf die chemische Konstitution das erstere eine gewisse Ähnlichkeit mit den letzteren beiden Stoffen besitzt.

Bei Gelegenheit der Untersuchung über die Verdauungsvorgänge im Dünndarme beobachteten Seemann und Kutscher,³⁾ daß ein proteolytisches Enzym normalerweise von der Darm-schleimhaut abgesondert wird, das dem Cohnheimschen Erepsin sehr ähnlich ist. Da aber die Wirksamkeit des Enzyms so schwach ist, daß man einen wesentlichen Einfluß auf die normale Verdauung ihm nicht zuschreiben kann, so glauben die genannten Forscher behaupten zu dürfen, daß der Darmsaft ein schwaches tryptisches Enzym enthält, welches nur die Aufgabe habe, die der Trypsinwirkung entgangenen Reste der Eiweißkörper vollständig aufzuspalten.

Im Gegensatz zur Beobachtung Cohnheims erhoben

¹⁾ Compt. rend. des séances de la Société de Biologie, Tome LV, p. 419.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVI, S. 244.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXV, S. 432.

Emlden und Knoop¹⁾ den Befund, daß «in der überlebenden Darmwand weder eine Rückbildung von koagulablem Eiweiß aus Albumosen und Peptonen noch eine Spaltung von Albumosen und Peptonen in nicht mehr die Biuretreaktion gebende Produkte» stattfindet.

Der oben erwähnten Beobachtung von Seemann und Kutscher gegenüber zeigte Cohnheim,²⁾ daß im lebenden Körper die Wirkung des Erepsins der des Trypsins keinesfalls nachsteht, indem trotz des vollständigen oder nahezu vollständigen Mangels an Trypsin «eine sehr reichliche für den Bedarf der Tiere völlig genügende Resorption, also Spaltung», des Pepsinpeptons in Darmschlingen stattfindet. Auf die widersprechenden Ergebnisse von Emlden und Knoop geht Cohnheim nicht besonders ein.

Sehr beachtenswert sind endlich die Versuche von Weinland,³⁾ die mit dem aus der Darmschleimhaut des Schweins ausgepreßten Saft ange stellt wurden. Weinland ließ die Darmextrakte auf die aus Wittepepton durch Ausfällen mit Zinksulfat erhaltenen Peptone bei 37° C. einwirken und beobachtete dabei, daß die Peptone allmählich in Produkte übergeführt wurden, die die Biuretreaktion nicht mehr gaben. Daß aber hier die Zerlegung der Peptone äußerst langsam — viel langsamer als bei Versuchen mit dem Hundeerepsin — erfolgte, ersieht man aus der folgenden Mitteilung von Weinland: «Die Intensität der Biuretreaktion nahm dabei in den ersten Stunden schneller, dann nur langsam ab, sodaß sie in allen Versuchen, die ich anstellte, nach 3 Tagen meist nur noch schwach bzw. sehr schwach auftrat. Es war also in 3 Tagen durch 50 ccm nicht mit Wasser verdünnten Preßsaft etwa 1/2 g Pepton in einfachere Spaltungsprodukte zerlegt. Nach längerer Einwirkung, z. B. von 14 Tagen, erhielt ich stets keine Biuretreaktion in dem Gemisch.» Weinland stellte ferner fest, daß die peptonspaltende Wirkung der Darmextrakte vom Schweine durch Zusatz von Soda deutlich verlangsamt wird.

¹⁾ Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol., Bd. 3, S. 120.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVI, S. 19.

³⁾ Zeitschrift f. Biol., neue Folge, Bd. 27, S. 292.

Bei dieser Sachlage erscheint mir sehr wünschenswert, die Fragen zu entscheiden:

Ob das Erepsin ein spezifisches Enzym ist? Ob das Erepsin in der Schleimhaut des Dünndarms von Pflanzenfressern vorkommt? Dazu mögen die unten beschriebenen Versuche einen Beitrag liefern.

I. Über die Spaltung der Nucleinsäuren durch das Erepsin.

Es liegen bereits eine Reihe von Untersuchungen vor, welche sich auf die enzymatische Zersetzung der Nucleinstoffe resp. der Nucleinsäuren beziehen. Unter diesen Untersuchungen kommt zuerst diejenige von Araki¹⁾ in Betracht. Araki unterzog unter der Leitung A. Kossels die Wirkung von einigen proteolytischen Enzymen auf das α -thymusnucleinsaure Natron einer systematischen Untersuchung und fand, daß das Trypsin und das Erepsin imstande sind, die gelatinierende α -Thymusnucleinsäure in die leichter lösliche β -Form umzuwandeln.

Dagegen sprach Iwanoff²⁾ den proteolytischen Enzymen die nucleinsäurespaltende Wirkung ganz ab und kam zur Überzeugung, daß die Spaltung der Thymusnucleinsäure nur durch ein besonderes Enzym bewirkt wird, das er in Schimmelpilzen gefunden und als Nuclease bezeichnet hatte.

Vor kurzem machte Plenge³⁾ die sehr wichtige Mitteilung, daß das α -thymusnucleinsaure Natron einen vortrefflichen festen Nährboden für Mikroorganismen bildet, und daß es gewisse Mikroorganismen gibt, die das α -nucleinsaure Natron zu verflüssigen vermögen. Da nun «die Fähigkeit der Mikroorganismen, Gelatine oder das α -nucleinsaure Natron zu verflüssigen, nicht immer parallel» geht, so glaubte Plenge annehmen zu dürfen, daß «in vielen Fällen wahrscheinlich ein besonderes auf Nucleinsäure abgestimmtes Enzym» vorhanden ist.

Bevor ich zur Schilderung der von mir erhaltenen Resultate übergehe, ist es zweckmäßig, um Wiederholungen zu vermeiden, einige Worte über die Darstellung der Nucleinsäuren und der Erepsinlösung vorzuschicken.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVIII, S. 84.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIX, S. 31.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIX, S. 190.

Die α -Nucleinsäuren wurden nach der Vorschrift von Neumann¹⁾ dargestellt. Zu den Versuchen verwendete ich stets das Natriumsalz.

Was die Darstellung des Erepsins anbetrifft, so befolgte ich genau die Angaben von Cohnheim. Der Dünndarm von Hunden, die sich in voller Verdauung befanden, wurde aufgeschlitzt, gründlich mit Wasser ab gespült und die Schleimhaut mit einem scharfkantigen Glasstück abgeschabt. Die abgeschabte Schleimhaut wurde mit feinem Sand zerrieben und mit der Ringerschen Lösung unter Zusatz von Chloroform und Toluol extrahiert. 2 Teile des Auszugs wurden mit 3 Teilen gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, der abfiltrierte und in Wasser suspendierte Niederschlag durch Dialyse vom Ammonsulfat befreit und wieder filtriert. Das so bereitete Filtrat erwies sich stets als sehr wirksam.

Hier sei gleich bemerkt, daß die von mir bereitete Erepsinlösung vollkommen frei von der direkt durch Magnesiamischung fällbaren Phosphorsäure war. Zur Bestimmung der Phosphorsäure nahm ich eine bestimmte Menge von verflüssigtem nucleinsäuren Natron heraus, verdünnte stark mit Wasser und versetzte mit Magnesiamischung. Der entstandene Niederschlag von phosphorsaurer Ammoniakmagnesia wurde in üblicher Weise behandelt und als pyrophosphorsaure Magnesia gewogen.

A. Versuche mit der Darmnucleinsäure.

Araki²⁾ war der erste, der die Nucleinsäure aus der Darmschleimhaut des Rindes darstellte und analysierte. Nach den Angaben von Araki ist die Darmnucleinsäure der α -Thymusnucleinsäure sehr ähnlich und liefert bei Hydrolyse mit Schwefelsäure Lävulinsäure.

Prof. K. Inouye³⁾ beschäftigte sich mit der Frage nach der Art der Purinbasen und der Pyrimidinbasen, die bei der Zersetzung der Darmnucleinsäure entstehen, und es gelang

¹⁾ Archiv f. Physiol. u. Anatom., physiol. Abt. 1898, S. 374, und 1899, Suppl.-Bd., S. 552.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVIII, S. 98.

³⁾ Noch nicht veröffentlichte Versuche.

ihm bisher, Adenin, Thymin und Cytosin mit Sicherheit nachzuweisen. Über die Zusammensetzung und die Spaltung der Darmnucleinsäure wird bald ausführlich von Prof. K. Inouye berichtet werden.

Versuch 1.

Eine Gallerte, welche aus 0,5 g darmnucleinsauren Natrons und 4 ccm Wasser bestand, wurde mit 4 ccm Erepsinlösung versetzt und bei Gegenwart von Toluol und Chloroform im Brutofen digeriert. Da nun nach 12stündigem Stehenlassen keine bemerkbare Veränderung eintrat, so wurde die Gallerte mittels eines dicken durch Glühen gereinigten Platindrahtes gut mit der Erepsinlösung durchgemischt und wieder in den Brutschrank gestellt. Nach 3tägiger Digestion war fast vollständige Verflüssigung vorhanden, einen Tag später war die Lösung eine vollständige. Diese Lösung gab nach der Entfernung der unzersetzt gebliebenen Darmnucleinsäuren nach dem Verfahren von Araki¹⁾ einen voluminösen Niederschlag mit einer ammoniakalischen Silberlösung.

Versuch 2.

Dieser Versuch wurde angestellt, um Aufschluß über die Abspaltung von Phosphorsäure aus der Darmnucleinsäure durch Erepsinwirkung zu erhalten.

0,5 g darmnucleinsauren Natrons wurden in 15 ccm siedenden Wassers gelöst, nach dem Erkalten mit 15 ccm Erepsinlösung versetzt, gut durchgemischt und unter Zusatz von Toluol und Chloroform im Brutofen digeriert.

Nach 24 Stunden wurden 5 ccm von der Lösung herausgenommen und zur Bestimmung der Phosphorsäure verwendet. Es wurden gefunden: **0,0161 g $Mg_2P_2O_7$, entsprechend 0,0103 g P_2O_5 .**

Nach 48 Stunden wurden 5 ccm der Lösung auf Phosphorsäure verarbeitet. Es wurden erhalten: **0,0200 g $Mg_2P_2O_7$, entsprechend 0,0128 g P_2O_5 .**

Nach 72 Stunden wurden 5 ccm der Lösung auf Phosphorsäure verarbeitet. Es wurden gefunden: **0,0213 g $Mg_2P_2O_7$, entsprechend 0,0136 g P_2O_5 .**

Nach 96 Stunden wurden in 5 ccm der Lösung gefunden: **0,0221 g $Mg_2P_2O_7$, entsprechend 0,0141 g P_2O_5 .**

¹⁾ a. a. O., S. 92.

Nach 120 Stunden wurden in 5 ccm der Lösung gefunden: **0,0226 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$** , entsprechend **0,0144 g P_2O_5** .

Die Versuchsergebnisse sind der bequemeren Übersichtlichkeit halber in folgender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle I.

Dauer der Digestion	Zur Analyse verwendete Lösung in ccm	Gefundene $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ in g	Aus der gefundenen $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ berechnete P_2O_5 in g
24 Stunden	5	0,0161	0,0103
48 »	5	0,0200	0,0128
72 »	5	0,0213	0,0136
96 »	5	0,0221	0,0141
120 »	5	0,0226	0,0144

Versuch 3.

Dieser Versuch wurde zu gleichem Zweck angestellt, wie Versuch 2.

1 g darmnucleinsauren Natrons in 40 ccm siedenden Wassers gelöst, nach völligem Erkalten mit 10 ccm Erepsinlösung versetzt und im Brutofen digeriert.

Nach 24 Stunden wurden 10 ccm von der Lösung herausgenommen und auf Phosphorsäure verarbeitet. Gefunden: **0,0081 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$** , entsprechend **0,0052 g P_2O_5** .

Nach 2 Tagen wurden in 10 ccm der Lösung gefunden: **0,0163 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$** , entsprechend **0,0104 g P_2O_5** .

Nach 4 Tagen wurden aus 10 ccm der Lösung erhalten: **0,0230 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$** , entsprechend **0,0147 g P_2O_5** .

Nach 6 Tagen wurden aus 10 ccm der Lösung erhalten: **0,0276 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$** , entsprechend **0,0176 g P_2O_5** .

Die Resultate der einzelnen Analysen sind in nebenstehender Tabelle zusammengestellt.

Aus den obigen Versuchen ergibt sich zunächst, daß das Erepsin befähigt ist, die Darmnucleinsäure unter Bildung von Phosphorsäure und Nucleinbasen zu spalten. Die Geschwindigkeit, mit welcher das Erepsin spaltend auf die Darmnuclein-

säure wirkt, wächst anfangs rapide und sie ist am 1. oder 2. Tage am größten. Vom 3. Tage ab läßt aber die genannte Wirkung des Erepsins allmählich nach. Es scheint mit zunehmendem Erepsingehalt die Spaltung der Darmnucleinsäure wenigstens in einem gewissen Grade beschleunigt zu werden; denn die absolute Menge der in der Zeiteinheit abgespaltenen Phosphorsäure betrug beim Versuche 3 viel weniger als beim Versuche 2, wo der Gehalt der Lösung an Erepsin verhältnismäßig größer war.

Tabelle II.

Dauer der Digestion	Zur Analyse verwendete Lösung in ccm	Gefundene $Mg_2P_2O_7$ in g	Aus der gefundenen $Mg_2P_2O_7$ berechnete P_2O_5 in g
24 Stunden	10	0,0081	0,0052
2 Tage	10	0,0163	0,0104
4 »	10	0,0230	0,0147
6 »	10	0,0276	0,0176

B. Versuche mit der α -Thymusnucleinsäure.

Versuch 1.

0,3 g α -thymusnucleinsaures Natron wurden in 3 ccm siedenden Wassers gelöst, nach dem Erkalten mit 3 ccm Erepsinlösung versetzt und dann unter Zusatz von Toluol und Chloroform in den Brutschrank gestellt. Nach 12stündiger Digestion war keine Veränderung wahrzunehmen; es wurde die gelatinöse Masse mittels eines dicken Platindrahtes gut mit der Schicht der Erepsinlösung durchgemischt und wieder bei $38^\circ C$. digeriert. Nach 3 Tagen fast vollständige Verflüssigung, 2 Tage später war alles verflüssigt. Die verflüssigte Masse wurde von den unzersetzt gebliebenen Nucleinsäuren befreit, stark konzentriert und mit einer ammoniakalischen Silberlösung versetzt; es entstand ein voluminöser Niederschlag.

Versuch 2.

0,5 g thymusnucleinsauren Natrons wurden in 15 ccm siedendem Wasser gelöst, nach dem Erkalten mit 15 ccm Erepsinlösung versetzt und unter Zusatz von Toluol und Chloroform im Brutofen digeriert. Alle 24 Stunden wurden 5 ccm von der Lösung herausgenommen und auf Phosphorsäure verarbeitet. Die erhaltenen Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle III.

Dauer der Digestion	Zur Analyse verwendete Lösung in ccm	Gefundene $Mg_2P_2O_7$ in g	Aus der gefundenen $Mg_2P_2O_7$ be- rechnete P_2O_5 in g
24 Stunden	5	0,0097	0,0062
2 Tage	5	0,0171	0,0109
3 »	5	0,0236	0,0150
4 »	5	0,0245	0,0156
5 »	5	0,0260	0,0166

Aus den obigen Versuchen ergibt sich, daß das Erepsin die Verflüssigung der α -Thymusnucleinsäure bewirkt und daß dabei die letztere eine Spaltung erfährt. Zieht man nun die absolute Menge der abgespaltenen Phosphorsäure in Betracht, so ergibt sich, daß die Geschwindigkeit der spaltenden Erepsinwirkung sich gegen die α -Thymusnucleinsäure ganz ebenso verhält wie gegen die Darmnucleinsäure.

C. Versuche mit der Nucleinsäure aus Rindermilz.

Levene¹⁾ unterwarf die Milznucleinsäure der Hydrolyse und fand, daß die Zersetzung hier auch unter Bildung von Guanin, Adenin, Cytosin und Thymin zustandekommt. Es gelang ihm aber nicht, die Lävulinsäure unter den Zersetzungsprodukten ausfindig zu machen, obwohl er genau nach der

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVII, S. 402.

Vorschrift von Kossel und Neumann verfuhr, ein Befund, der mit Angaben von K. Inouye¹⁾ in direktem Widerspruch steht.

Wie die nachstehenden Versuche zeigen, übt das Erepsin die gleiche Wirkung auf die Milznucleinsäure aus, wie auf die bereits geschilderten Nucleinsäuren.

Versuch 1.

Eine Gallerte, welche aus 0,5 g milznucleinsauren Natrons und 5 ccm Wasser bestand, wurde mit 5 ccm Erepsinlösung gut durchgemischt und unter Zusatz von Chloroform und Toluol im Brutschrank digeriert. Nach 6tägiger Digestion war vollständige Verflüssigung eingetreten. Die verflüssigte Masse wurde nach dem bereits beschriebenen Verfahren von den unzerstört gebliebenen Nucleinsäuren befreit und auf dem Wasserbade eingeeengt. Der Zusatz von einer ammoniakalischen Silberlösung zur eingeeengten Flüssigkeit erzeugte einen voluminösen Niederschlag.

Versuch 2.

0,5 g milznucleinsaures Natron wurden in 15 ccm siedenden Wassers gelöst, nach dem Erkalten mit 15 ccm Erepsinlösung versetzt und bei Gegenwart von Toluol und Chloroform im Brutschrank digeriert. Alle 24 Stunden wurden 5 ccm von der Lösung herausgenommen und auf Phosphorsäure verarbeitet. Die gewonnenen Ergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle IV.

Dauer der Digestion	Zur Analyse verwendete Lösung in ccm	Gefundene $Mg_2P_2O_7$ in g	Aus der gefundenen $Mg_2P_2O_7$ berechnete P_2O_5 in g
24 Stunden	5	0,0041	0,0026
2 Tage	5	0,0062	0,0040
3 »	5	0,0068	0,0043

¹⁾ Mündliche Mitteilung.

D. Versuche mit der Nucleinsäure aus den Spermatozoen des Hamo (*Muraenosox cinereus* Forsk).

K. Inouye stellte zuerst eine Nucleinsäure aus den Spermatozoen des Hamo (*Muraenosox cinereus* Forsk) dar, welche ihren Eigenschaften nach der Thymusnucleinsäure sehr nahe zu kommen scheint. Es schien uns daher von Interesse, die Wirkung des Erepsins auf die Hamonucleinsäure der Untersuchung zu unterziehen. Herr Prof. K. Inouye hatte mir das Material hierzu freundlichst zur Verfügung gestellt, welches genau nach der Methode von Neumann bereitet war.

Versuch 1.

Eine gelatinöse Masse, welche aus 0,5 g hamonucleinsauren Natrons und 5 ccm Wasser bestand, wurde mit 5 ccm Erepsinlösung versetzt und unter Zusatz von Chloroform und Toluol im Brutofen digeriert. Da nach 24 Stunden keine Veränderung zu bemerken war, so wurde die Gallerte mit Hilfe von einem dicken durch Glühen gereinigten Platindraht gut mit der Erepsinlösung durchgemischt und wieder in den Brutofen gestellt. Die vollständige Auflösung der Gallerte erfolgte erst nach 7tägiger Digestion. Die Flüssigkeit, die von den unzersetzt gebliebenen Nucleinsäuren befreit war, gab bei Zusatz von einer ammoniakalischen Silberlösung einen voluminösen Niederschlag.

Versuch 2.

0,5 g hamonucleinsauren Natrons wurden in 15 ccm heißen Wassers gelöst, nach dem Erkalten mit 15 ccm Erepsinlösung versetzt und unter Zusatz von Toluol und Chloroform im Brutschrank digeriert. Alle 4 Tage wurden 5 ccm von der digerierten Lösung herausgenommen und zur Bestimmung der Phosphorsäure verwendet. Die erhaltenen Resultate sind in nebenstehender Tabelle zusammengestellt.

Der Versuch 1 zeigt unzweideutig, daß bei der Digestion mit dem Erepsin die Hamonucleinsäure in leichter lösliche Verbindungen übergeht. Aus dem Versuch 2 läßt sich schließen, daß die durch das Erepsin bewirkte Lösung der Hamonucleinsäure auch von einer Abspaltung der Phosphorsäure begleitet wird.

Tabelle V.

Dauer der Digestion	Zur Analyse verwendete Lösung in ccm	Gefundene $Mg_2P_2O_7$ in g	Aus der gefundenen $Mg_2P_2O_7$ be- rechnete P_2O_5 in g
4 Tage	5	0,0075	0,0048
8 »	5	0,0096	0,0061

Vergleicht man nun die geschilderten Versuchsergebnisse, so stimmen diese in allen Beziehungen sehr gut miteinander überein: es zeigt sich, daß die Nucleinsäuren, welche der Untersuchung unterworfen waren, ausnahmslos eine Abspaltung bei der Digestion mit Erepsin erfahren. Somit ist der Beweis dafür erbracht, daß es mindestens ein proteolytisches Enzym gibt, welches die Fähigkeit besitzt, bei der schwach alkalischen Reaktion den Abbau der Nucleinsäuren herbeizuführen. Auf Grund dieser Tatsache kann ich nicht ganz L. Iwanoff¹⁾ beistimmen, wenn er behauptet, daß «das nucleinspaltende Enzym mit dem proteolytischen Enzym nicht identisch ist».

Versuch 1.

Für diesen Versuch bediente ich mich eines von E. Merk bezogenen Trypsins, welches sich bei der Fibrinverdauung als sehr wirksam erwiesen hatte.

Die gelatinöse Masse, welche aus 0,5 g nucleinsauren Natrons, aus Spermatozoen des Hamo und 5 ccm Wasser bestand, wurde mit 0,5 g Trypsin und 5 ccm 0,5 prozentiger Sodalösung bei Gegenwart von Toluol und Chloroform im Brutschrank digeriert. Nach 11 tägiger Digestion war nur ein kleiner Teil von der gelatinösen Masse verflüssigt.

Versuch 2.

Für diesen Versuch fand eine nach der Angabe von M. Jacoby²⁾ dargestellte Trypsinlösung Anwendung.

¹⁾ a. a. O.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 139.

0,5 g hamonucleinsauren Natrons wurden in 5 ccm siedenden Wasser gelöst, nach dem Erkalten mit 5 ccm Trypsinlösung versetzt und dann in gleicher Weise behandelt, wie beim Versuch 1. Selbst nach 14tägiger Digestion war keine Veränderung zu beobachten.

Versuch 3.

0,3 g hamonucleinsauren Natrons wurden in 10 ccm heißen Wassers gelöst, nach dem Erkalten mit 0,5 g Trypsin (von E. Merk) und 20 ccm 0,5 prozentiger Sodalösung versetzt und in üblicher Weise behandelt. Nach 9 tägiger Digestion war die Abspaltung der Phosphorsäure nicht mit Sicherheit nachzuweisen.

Die Versuche lehren, daß das Trypsin nicht imstande ist, eine tiefgreifende Spaltung der Hamonucleinsäure herbeizuführen. Zu dem gleichen Ergebnisse führten auch die Versuche, welche mit den übrigen Nucleinsäuren angestellt wurden. Es kann also kein Zweifel darüber bestehen, daß bezüglich der Wirkung auf die Nucleinsäuren ein prinzipieller Unterschied zwischen Erepsin und Trypsin vorhanden ist.

Zieht man außer diesem Befunde die von O. Cohnheim festgestellten Tatsachen in Betracht,¹⁾ daß hinsichtlich der Fällungsgrenze mit Ammonsulfat und der vernichtenden Temperatur das Erepsin nicht unerhebliche Abweichung vom Trypsin zeigt, so ist man wohl zu dem Schluß berechtigt, daß die in Rede stehenden Enzyme zwei ganz verschiedene Verbindungen sind, welche ähnliche Wirkungen auf die Peptone ausüben.

II. Über das Vorkommen eines peptonspaltenden Enzyms in der Schleimhaut des Dünndarms von Pflanzenfressern.

A. Versuche mit dem Dünndarme von Rindern.

Der Dünndarm wurde von frisch geschlachteten Tieren entnommen, gleich aufgeschlitzt, sorgfältig mit Wasser gewaschen

¹⁾ a. a. O., S. 459 und 460.

und die Schleimhaut abpräpariert. Was die Darstellung des enzymhaltigen Auszuges aus der abpräparierten Schleimhaut anbetrifft, so befolgte ich genau die Vorschrift von O. Cohnheim.

Die Peptonlösung wurde stets nach der Angabe O. Cohnheims aus den peptischen Verdauungsprodukten des Muskelfleisches dargestellt; sie gab selbst bei einer sehr starken Verdünnung eine schöne Biuretreaktion.

Probe 1. 10 ccm Darmauszug wurden mit 1 ccm Peptonlösung vermischt und bei Gegenwart von Toluol und Chloroform im Brutofen digeriert, dessen Temperatur meist 37—38° C. betrug. Nach 2 Tagen gab die Probe keine Biuretreaktion mehr.

Probe 2. Eine kleine Flocke frischen Fibrins wurde mit 10 ccm Darmauszug übergossen und dann auf die gleiche Weise behandelt wie bei Probe 1. Nach 63stündiger Digestion erfolgte teilweise Lösung des Fibrins.

Probe 3. 2 g darmnucleinsauren Natrons wurden in 10 ccm siedenden Wassers gelöst, nach dem Erkalten gut mit 10 ccm Darmauszug durchgemischt und unter Zusatz von Toluol und Chloroform in den Brutofen gestellt. Nach 10tägiger Digestion war die Gallerte fast vollständig verflüssigt; in dieser verflüssigten Masse befanden sich 0,0092 g P_2O_5 .

Die Versuche wurden noch vielfach mit gleichem Erfolge wiederholt.

B. Versuche mit dem Dünndarme von Kaninchen.

Zur Darstellung des wirksamen Darmauszugs wurde der von frisch getöteten Kaninchen herausgenommene Dünndarm auf die oben beschriebene Weise behandelt.

Als Pepton bediente ich mich hier auch der peptischen Verdauungsprodukte des Fleisches.

Probe 1. Ein Gemisch von 10 ccm Darmauszug und 1 ccm Peptonlösung, das schwach alkalisch reagierte und eine rein rote Biuretreaktion gab, wurde unter Zusatz von Toluol und Chloroform bei Bruttemperatur digeriert. Nach 48 Stunden erhielt ich nur sehr schwache Biuretreaktion in dem Gemisch.

Probe 2. Eine gelatinöse Masse, welche aus 0,5 g darmnucleinsauren Natrons und 5 ccm Wasser bestand, wurde mit

5 ccm Darmauszug durchgemischt und unter Zusatz von Toluol und Chloroform bei Bruttemperatur digeriert. Es kam erst nach 10 Tagen vollständige Verflüssigung der Gallerte zustande; diese Flüssigkeit, gleich auf die frei gewordene Phosphorsäure verarbeitet, ergab 0,0079 g P_2O_5 .

Die beschriebenen Versuche zeigen übereinstimmend, daß die Peptone durch die schwach alkalischen Darmauszüge von Rindern und von Kaninchen allmählich in abiurete Produkte umgewandelt werden. Diese Tatsache muß im Verein mit dem Umstande, daß die in Rede stehenden Darmauszüge auch spaltend auf die Darmnucleinsäure einwirken, zu der Schlußfolgerung führen, daß in der Schleimhaut des Dünndarms von gewissen Pflanzenfressern ein Enzym enthalten ist, welches große Ähnlichkeit mit dem Hunderepsin aufweist.
