

Die Endprodukte der Pankreasselbstverdauung.

IV. Mitteilung.

Von
Kutscher und Lohmann.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Marburg.)
(Der Redaktion zugegangen am 1. April 1905.)

In einigen früheren Abhandlungen haben wir gezeigt, daß die „Lysinfraktion“, die man aus den Produkten der Pankreasselbstverdauung darstellen kann, nicht einheitlich ist.¹⁾ Wir haben daraus eine „Lysinfraktion im engeren Sinne“ und eine „Cholinfraktion“ erhalten können. Wir stellten zu diesem Zweck aus den Wolframatn der „Lysinfraktion“ die freien Basen dar, fällten dieselben nach der Vorschrift Kossels mit alkoholischer Pikrinsäure. Die in Alkohol schwerlöslichen Pikrate stellten die „Lysinfraktion im engeren Sinne“ dar. Aus ihr vermochten wir durch Pikrolonsäure ein in Wasser schwerlösliches Pikrolonat zu gewinnen. Wir haben dieses Pikrolonat stets, aber immer in sehr geringen Mengen erhalten. Um etwas Weiteres über die hier an Pikrolonsäure gebundene Base zu erfahren, haben wir das Pikrolonat durch Schwefelsäure zersetzt, die Pikrolonsäure mit Äther entfernt, die Schwefelsäure durch Baryt, den Baryt durch Kohlensäure abgeschieden. Die freie Base erhielten wir so nach dem Einengen als stark alkalisch reagierenden Sirup, der keine Neigung zur Kristallisation zeigte. Auch das Chlorid, das wir daraus darstellten, wollte nicht kristallisieren. Das Platinat sowohl wie die Goldverbindung war in Wasser und Alkohol leicht löslich, aber ebenfalls nicht zum Kristallisieren zu bringen. Nur Pikrinsäure und Pikrolonsäure lieferten analysierbare Verbindungen, doch reichten die Mengen nicht für ausführliche Analysen.

Die in Alkohol leichtlöslichen Pikrate befreiten wir vom Alkohol, zersetzten sie durch Salzsäure, entfernten die Pikrinsäure durch Äther, nahmen die so erhaltenen Chloride schließlich

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIX, S. 159 und Bd. LXI, S. 331.

mit Alkohol auf und fällten mit alkoholischer Quecksilberchloridlösung. Die Fällung stellte die «Cholinfraktion» dar. Wir haben in letzter Zeit nochmals die «Cholinfraktion» näher untersucht, nachdem sich bei Arbeiten von Martin Schenck über die Hefe gezeigt hatte, daß, wenn sich bei der Autodigestion Penta- und Tetramethyldiamin bilden, diese stets zum Teil in die «Cholinfraktion» gehen.

Wir überließen ca. 5 Kilo Schweinepankreas der Autodigestion bis zum Verschwinden der Biuretreaktion, stellten die Cholinfraktion dar, zersetzten sie mit Schwefelwasserstoff, engten das Filtrat vom Schwefelquecksilber zum Sirup ein, nahmen einen Teil davon mit Alkohol auf und fällten mit alkoholischer Platinchloridlösung. Von dem umkristallisierten Platinat benutzten wir den zuerst kristallisierenden, also jedenfalls am schwersten löslichen Anteil zu einer Platinbestimmung.

0.1741 g Substanz gaben 0.0542 g Pt = 31,86% Pt

Cholinplatinat verlangt 31,64% Pt.

Auch sonst erhielten wir keinen Anhalt dafür, daß in der Cholinfraktion noch eine andere Base steckte. Da wir auch in diesem Versuch die «Lysinfraktion im engeren Sinne» vergeblich auf die Gegenwart von Penta- und Tetramethyldiamin untersuchten, müssen wir an unserer früheren Angabe festhalten. Benutzt man zur Autodigestion des Pankreas lebendfrische Organe (dies ist bei der bekannten Fäulnisfähigkeit des Pankreas durchaus notwendig), schließt man ferner bei der Autodigestion die Fäulnis sorgfältig aus, so findet sich unter den Produkten der Selbstverdauung kein Penta- und Tetramethyldiamin.

Des weiteren haben wir namentlich versucht, das Filtrat von der Cholinfraktion aufzuteilen. Wir verfahren dabei in folgender Weise. Das Filtrat wurde abwechselnd mit alkoholischer Quecksilberchlorid- und alkoholischer Natriumacetatlösung versetzt, bis eine Probe auf Zugabe der genannten Reagentien nicht mehr einen Niederschlag gab. Es bildete sich eine sehr voluminöse Fällung. Dieselbe wurde nach 24 Stunden abgesaugt und mit alkoholischer Quecksilberchloridlösung, der alkoholische Natriumacetatlösung zugefügt war, gewaschen. Den Niederschlag trugen wir in Wasser ein; dabei löste sich bereits in der Kälte

0.1714 g Substanz gaben 28 ccm N; T. = 12,5°; Ba = 751,5 mm

Für Lysinpikrat berechnet:

Gefunden:

N = 18,7%

N = 19,1%

Der Explosionspunkt wurde bei 255° gefunden.

Die Mutterlaugen, die wir von diesem Pikrat erhielten, engten wir stark ein. Der Rückstand ließ sich jetzt durch Alkohol in eine schwerlösliche und eine leichtlösliche Fraktion teilen. Aus dem in Alkohol schwerlöslichen Anteil entfernten wir durch Schwefelsäure und Äther die Pikrinsäure, die Schwefelsäure durch Baryt, den Baryt durch Kohlensäure. Nach dem Einengen kristallisierte dieser Teil, dessen Lösung das polarisierte Licht nach links ablenkte, während das freie resp. kohlen-saure Lysin rechts dreht. Die Kristalle schmeckten süß, gaben bei der Oxydation mit Schwefelsäure und Bichromat Phenylacetaldehyd und Benzoesäure. Mit Phenylecyanat wurde aus ihnen eine kristallinische bei 182° schmelzende Verbindung gewonnen. Es lag also Phenylalanin vor. Dieser Befund kann nicht weiter überraschen, nachdem durch Schulze und Winterstein¹⁾ entgegen der gegenteiligen Behauptung Hausmanns²⁾ die Fällbarkeit des Phenylalanins durch Phosphorwolframsäure erwiesen worden ist.

Aus der in Alkohol leichtlöslichen Fraktion konnten hingegen bisher kristallinische Produkte nicht gewonnen werden.

Wir haben dann das Filtrat der zweiten Quecksilberfällung, die wir, wie vorstehend geschildert, aufzuteilen versuchten, näher darauf geprüft, ob sich in demselben noch größere Mengen durch Phosphorwolframsäure fällbarer Verbindungen finden. Zu diesem Zweck verjagten wir daraus den Alkohol, schwemmten den zum großen Teil in Wasser unlöslichen Rückstand in Wasser auf und zersetzten ihn mit Schwefelwasserstoff. Nach Entfernung des Schwefelquecksilbers und des Schwefelwasserstoffes erhielten wir mit Phosphorwolframsäure nur einen geringen Niederschlag. Demnach werden durch alkoholische Quecksilberchloridlösung im Verein mit alkoholischer Natriumacetatlösung die Körper der Lysinfraktion annähernd

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 574.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXIX, S. 138.

quantitativ abgeschieden. Übrigens haben wir uns noch durch einen besonderen Versuch davon überzeugt, daß namentlich Lysindichlorid durch Quecksilberchlorid + Natriumacetat in alkoholischer Lösung gefällt wird. Die Fällung ist amorph.

Eingehender haben wir uns dann noch mit der Frage beschäftigt, ob bei der Pankreasselbstverdauung sich regelmäßig Uracil oder Thymin bildet. Zahlreiche Versuche, die von Kutscher bereits früher in dieser Richtung angestellt waren, hatten ein negatives Resultat ergeben, so daß Kutscher schließlich zur Thymusdrüse griff, um die Frage zu entscheiden, ob sich bei der Autodigestion der Organe Thymin und Uracil bilden können. In der Tat gelang hier der Nachweis dieser Körper.¹⁾ Die Methode, welche von Kutscher zur Gewinnung des Thymins und Uracils aus den Verdauungsprodukten der Thymus benutzt wurde, hat Levene²⁾ in ganz ähnlicher Form auf das Pankreas angewandt. Er gibt an, damit dort Uracil gewonnen zu haben, das er durch Analyse als solches identifizierte. Wir haben eine Nachprüfung dieser Angabe, die zu den Erfahrungen Kutschers im Gegensatz stand, vorgenommen. Wir gingen dabei wie folgt vor. 2 kg lebendfrische Bauchspeicheldrüsen vom Schwein wurden feingehackt unter Chloroformwasser³⁾ der Selbstverdauung bei 37° überlassen, bis die Verdauungsflüssigkeit nur spurenhafte Biuretreaktion zeigte. Die Verdauungsflüssigkeit wurde nun aufgeköcht und bis zur beginnenden Abscheidung des Tyrosins eingeeengt. Das auskristallisierte Tyrosin saugten wir ab, wuschen es sorgfältig aus, vereinigten das Filtrat mit den Waschwässern und fällten durch Baryt die Phosphate aus. Dieselben wurden entfernt, das Filtrat durch Kohlensäure vom überschüssigen Baryt befreit. Darauf engten wir es ein, säuerten mit Salpetersäure schwach an, schieden die Alloxurbasen durch 20%ige Silbernitratlösung ab. In diesen Niederschlag gehen allerdings noch eine Reihe anderer Substanzen, deren Silberverbindung in starkem Ammoniak löslich

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIV, S. 114.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVII, S. 527.

³⁾ Siehe Müntz, C. R. de l'Académie des sciences, Bd. LXXX, S. 1250; auch Salkowski, Deutsche med. Wochenschrift, Nr. 16, 1888.

ist, hinein: wir werden über diese Körper in einiger Zeit ausführlicher berichten. Er ist aber frei von Uracil. Das Filtrat dieses ersten Niederschlages versetzten wir mit 20%iger Silbernitratlösung, bis eine Probe mit Barytwasser eine braune Fällung gab: nachdem dieser Punkt erreicht war, setzten wir vorsichtig Barytwasser zu, bis eine Probe mit starker Silbernitratlösung und etwas Ammoniak keine Fällung mehr gab. Von Kutscher¹⁾ ist an anderen Stellen dieser Zeitschrift des näheren erörtert worden, warum in diesem Niederschlag auch das Uracil sich finden muß, wenn sich welches gebildet hat. Der Niederschlag, der der Histidinfraktion entspricht, wurde abgesaugt, mit Wasser verrieben, mit etwas Schwefelsäure angesäuert und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Das Filtrat vom Schwefelsilber fällten wir nach Vertreibung des Schwefelwasserstoffs vorsichtig mit Phosphorwolframsäure aus. Diese Fällung mußte das Histidin und eventuell das Cytosin aufgenommen haben. Das Filtrat befreiten wir durch Baryt von Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure, beseitigten den überschüssigen Baryt durch Kohlensäure und engten ein. Es kristallisierte nur ein wenig Tyrosin aus, dagegen keine Spur von Thymin und Uracil. Übrigens fiel uns auf, daß diese Fraktion sehr starke Tryptophanreaktion gab. Leider stand uns nicht reines Tryptophan zur Verfügung, so daß wir dessen Verhalten gegen Silbernitrat + Baryt nicht prüfen konnten. Da die Argininfraktion die Tryptophanreaktion nur spurenhaltig gab, verhielt sich in unserem Falle die mit Chlorwasser reagierende Substanz wie Thymin. Auch durch Silbernitrat und vorsichtigen Zusatz von Ammoniak wurde sie niedergeschlagen. Wir konnten die gleiche Beobachtung noch zweimal machen. Sollte reines Tryptophan in gleicher Weise mit Silbernitrat reagieren, so wäre eine weitere brauchbare Methode zur Isolierung dieses Körpers neben der von Cole und Hopkins ausgearbeiteten gegeben.

Wir machten schließlich noch folgenden Versuch, um das Uracil aus dieser Fraktion zu isolieren. Sie wurde mit Wasser aufgenommen und durch 20%ige Silbernitratlösung + Am-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIV, S. 116, und Bd. XXXVIII, S. 116.

moniak ausgefällt. Die reichliche Fällung saugten wir ab, zersetzten sie in der Wärme mit überschüssiger Salzsäure, entfernten das Chlorsilber und dampften das Filtrat auf dem Wasserbade zur Trockne ab. Dabei schieden sich reichlich Huminstoffen ab. Wir nahmen den Rückstand mit siedendem Wasser auf, entfärbten mit Tierkohle und engten zum Sirup ein. Dieser erstarrte nach kurzer Zeit zu einer festen Kristallmasse. Die anhaftende Mutterlauge ließ sich durch Alkohol entfernen. Die Analyse des aus Wasser umkristallisierten Körpers zeigte, daß salzsaure Glutaminsäure vorlag.

0.1772 g Substanz gaben 11.6 ccm N: T. = 14,5°; Ba = 736.5 mm
 Gefunden: N = 7.5% Berechnet: N = 7.6%

Zwei andere gleichartige Versuche gaben dasselbe Resultat. Wir sehen infolgedessen von einer näheren Schilderung ab. Demnach treten Thymin und Uracil sicher nicht regelmäßig bei der Pankreasselbstverdauung auf.

Zu der Methode, die zur Isolierung des Thymins resp. Uracils aus Verdauungsgemischen führte, macht Herr Jones in dieser Zeitschrift, Bd. XLII, S. 42, die Bemerkung: «Die Methode, deren sich Kutscher zur Isolation dieser Substanz bediente, ist nicht verschieden von der, die seinerzeit vom Verfasser (Jones) in Kossels Laboratorium zur Anwendung gebracht wurde.» Nun, so ganz identisch ist das von mir benutzte Verfahren doch nicht, das wird jeder merken, der nach der in Bd. XXIX (1900) dieser Zeitschrift veröffentlichten originalen Methode des Herrn Jones zu arbeiten versuchen wird. Im übrigen mögen mir einige Worte darüber gestattet sein, wie das Prinzip dieser Methode entstanden ist. Bei meinen Arbeiten über das «Antipepton» machte ich die Beobachtung, daß man die Alloxurbasen, Histidin und Arginin, durch ihre Silberverbindungen von einander trennen kann, da die Silberverbindungen der Alloxurbasen in schwacher Salpetersäure unlöslich sind, das Histidinsilber bei schwach alkalischer Reaktion, das Argininsilber erst bei stärkerer alkalischer Reaktion der Flüssigkeit ausfällt. Bereits in meiner Habilitationsschrift (1899) habe ich von diesem Prinzip Gebrauch gemacht und es veröffentlicht. Herr Jones wandte lediglich das von mir gefundene Prinzip für das Thymin an. Ich kann daher der obigen Ausführung des Herrn Jones, ich hätte seine Methode benutzt, nicht beistimmen, umgekehrt ist die Sache richtiger.

Kutscher.