

Zur Kenntnis der Papayotinverdauung.

Von
Kutscher und Lohmann.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Marburg.)
(Der Redaktion zugegangen am 29. Oktober 1905.)

Seitdem im Jahre 1879 von Würtz das Papayotin näher untersucht wurde, ist dasselbe Gegenstand zahlreicher Arbeiten geworden. Trotzdem sind wir über die Wirkungsweise dieses pflanzlichen, proteolytischen Enzyms noch nicht genügend unterrichtet. Denn während die einen Forscher angeben, daß durch das Papayotin die Eiweißstoffe nur bis zu Peptonen abgebaut werden können, versichern andere, die gleichen krystallinischen Abbauprodukte gewonnen zu haben, wie bei der Trypsinverdauung. Sie bezeichnen daher das Papayotin als tryptisches Enzym.

Von den neueren Untersuchungen über das Papayotin mögen hier namentlich die sorgfältigen Arbeiten von L. B. Mendel¹⁾ und Emmerling²⁾ genannt werden. Mendel konnte aus den durch Papayotin erhaltenen Verdauungsprodukten keine krystallinischen Spaltungsprodukte darstellen, Emmerling dagegen erhielt bei der Papayotinverdauung geringe Mengen Arginin, Tyrosin, Leucin, Asparaginsäure, Glycocoll, Glutaminsäure, Alanin, Phenylalanin. Allerdings bediente er sich zur Darstellung der Aminosäuren der ziemlich eingreifenden Fischer'schen Veresterungsmethode, die möglicherweise solche als Kunstprodukte zu liefern vermag.³⁾

Aus den zwiespältigen Ansichten über die Bildung krystallinischer Verdauungsprodukte durch das Papayotin geht jedenfalls hervor, daß ihre Isolierung mit beträchtlichen Schwierigkeiten verknüpft sein muß, die durch die Gegenwart reichlicher Mengen kolloider Verdauungsprodukte wie Albumosen, Peptone usw. bedingt ist.

Nun ist von Steudel und Kutscher⁴⁾ eine Methode

¹⁾ L. B. Mendel und F. P. Underhill, Transact. of the Connecticut Acad., Bd. XI, Oktober 1901.

L. B. Mendel, American Journal of medic. Sciences, August 1902.

²⁾ Emmerling, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXXV, S. 695.

³⁾ Siehe Diese Zeitschrift, Bd. XXXIX, S. 81.

⁴⁾ Zentralblatt für Physiologie, Bd. XIX, Heft 15, und Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel, 1905, Heft 9.

ausgearbeitet worden, die gestattet, derartig hindernde kolloide Substanzen sehr vollkommen zu beseitigen. Wir haben sie auch zur Entfernung der Albumosen etc. aus einer durch Papayotininwirkung erhaltenen Verdauungsflüssigkeit angewandt, und nunmehr gelang in der Tat die Darstellung charakteristischer krystallinischer Abbauprodukte ohne sonderliche Schwierigkeit.

Am 7. Februar 1902 wurden 100 g feuchtes, gut abgepreßtes Fibrin in 750 g Wasser gebracht, 15 g Papayotin Merk zugefügt, reichliche Mengen Chloroform zugegeben und das ganze wohlverschlossen in einen auf 38° eingestellten Brutschrank gebracht. Hier verblieb es bis zum 13. Dezember 1902. Die Verdauungsflüssigkeit gab zu dieser Zeit noch sehr starke Biuret- und Tryptophanreaktion. Wir filtrierten sie, dampften sie zum dünnen Sirup ein und stellten sie zur Krystallisation auf. Allmählich trocknete die Masse zu einem festen Lack ein, ohne jedoch die geringste Krystallisation abzusetzen. In dieser Form hielten wir sie lange Zeit, bis uns durch die oben erwähnte Methode die Möglichkeit zu weiterer Verarbeitung gegeben wurde. Wir nahmen dazu den eingetrockneten Rückstand wieder mit Wasser auf und fällten ihn mit 20%iger Tanninlösung vollkommen aus. Ohne zu filtrieren, hielten wir die gefällte Flüssigkeit einige Tage an kaltem Orte, bis sich die über dem mächtigen, zu einer festen Masse zusammengesinterten Niederschlag stehende Flüssigkeit vollkommen geklärt hatte. Nunmehr wurde sie vom Niederschlag abgegossen, der Niederschlag oberflächlich gewaschen. Das überschüssige Tannin beseitigten wir aus der so gewonnenen Flüssigkeit durch Barytlösung. Es ist notwendig, Barytwasser zuzufügen, bis sich an der Oberfläche der Flüssigkeit beim Umrühren ein rötlicher Schaum zu zeigen beginnt. Das Baryumtannat saugten wir ab. Um aus dem mißfarbenen Filtrat die Reste des Tannins wegzuschaffen, säuerten wir es mit Schwefelsäure schwach an und trugen, ohne das Baryumsulfat vorher zu entfernen, Bleioxyd im Überschuß ein. Rührt man jetzt die Flüssigkeit einige Zeit mit dem Glasstabe um, so wird sie wasserklar und fast farblos, indem durch das Blei die Reste des Tannins, die überschüssige Schwefelsäure und einige schmierende Substanzen gebunden werden. Den

Niederschlag entfernten wir durch Filtration. Die günstige Wirkung der bisher geschilderten Maßnahmen zeigte sich, als wir das Filtrat einengten. Denn aus demselben begann sich schnell eine in glänzenden Blättchen krystallisierende Substanz abzuscheiden.

Wir nahmen jedoch, ohne die reichliche Krystallisation zu entfernen, die eingengte Flüssigkeit wieder mit Wasser auf und säuerten mit Schwefelsäure stark an. Das ausfallende Bleisulfat saugten wir ab und fällten das Filtrat mit Phosphorwolframsäure. Aus der Phosphorwolframsäurefällung wurden zunächst nach bekannten Methoden die freien Basen dargestellt, die weiter in eine Histidin-, Arginin- und Lysinfraktion geteilt wurden.

Aus der Histidinfraktion gewannen wir durch Pikrolonsäure, nach Steudels¹⁾ Angaben, ein in dünnen, gelben, glänzenden Blättchen krystallisierendes Pikrolonat, das bei 350° explodierte. Die Ausbeute betrug nur ca. 0,1 g. Die Analyse gab folgendes Resultat:

0,0766 g gaben 11,6 ccm N; T. = 16,5°; Ba. = 748,5 mm.

woraus sich N = 17,4% berechnet.

Histidinpikrolonat verlangt: 23,44%.

Die von uns gewonnene Verbindung war demnach wahrscheinlich kein Histidinpikrolonat, doch waren wir wegen Mangels an Material gezwungen, unsere Analyse mit zu geringen Mengen anzustellen, und möchten deshalb die Frage, ob bei der Papayotinverdauung kein Histidin entsteht, noch in der Schwebe lassen.

Aus der Argininfraktion ließ sich durch Pikrolonsäure das charakteristische Argininpikrolonat gewinnen. Die Ausbeute daran betrug ca. 0,5 g. Die Analyse gab folgende Resultate:

0,1686 g gaben 38,0 ccm N; T. = 18°; Ba. = 749,5 mm

0,1647 „ „ 37,2 „ „ „ = 18,5°; „ = 740 „

Für $C_{10}H_8N_4O_5 \cdot C_6H_{14}N_4O_2$

Berechnet: N = 25,6%. Gefunden: N = 26,1%; 25,7%.

Guanidin, nach dem wir im Filtrat vom Argininpikrolonat suchten, konnten wir nicht nachweisen.

Aus der Lysinfraktion ließ sich ohne Schwierigkeit, nach der Vorschrift von Kossel, typisches Lysinpikrat in einer Ausbeute von 2 g gewinnen. Davon gaben

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVII, S. 219.

0,1675 g Substanz 27,8 ccm N; T. = 17,5°; Ba. = 733,5 mm

Für $C_6H_{14}N_2O_2 \cdot C_6H_3N_3O_7$

Berechnet: N = 18,7%. Gefunden: N = 18,8%.

Penta- oder Tetramethyldiamin, nach denen wir in dieser Fraktion fahndeten, ließ sich nicht nachweisen.

Das Filtrat der Phosphorwolframfällung befreiten wir durch Baryt von Schwefelsäure und überschüssiger Phosphorwolframsäure. Den Baryt entfernten wir durch Kohlensäure. Nach dem Einengen begann eine reichliche Krystallisation. Die Krystalle saugten wir scharf ab. Durch Aufnehmen mit Wasser ließen sie sich in zwei Fraktionen trennen. Die eine war in Wasser sehr schwer löslich, sie bestand aus feinen glänzenden Nadeln, die sich durch Analyse und Reaktionen als Tyrosin erweisen ließen. Die Ausbeute daran betrug ca. 0,5 g.

0,1571 g gaben 11,0 ccm N; T. = 18,5°; Ba. = 736 mm

0,1558 » » 10,5 » » » = 18,0°; » = 740 »

Für $C_9H_{11}NO_3$

Berechnet: N = 7,8%. Gefunden: N = 7,9%; 7,7%.

Die in Wasser leichter lösliche Fraktion krystallisierte in zarten, glänzenden Blättchen. Die Analyse zeigte, daß sie jedenfalls aus einem Gemenge von Aminovaleriansäure und Leucin bestand.

0,1567 g gaben 16,2 ccm N; T. = 18,0°; Ba. = 750 mm

0,1584 » » 16,6 » » » = 15,7°; » = 741 »

0,1794 » » 0,348 g CO_2 und 0,1575 g H_2O

Gefunden:	Aminovaleriansäure verlangt:	Leucin verlangt:
N = 11,9%; 12,1%	N = 12,0%	N = 10,7%
C = 52,9%	C = 51,3%	C = 55,0%
H = 9,8%	H = 9,5%	H = 10,0%

Die Ausbeute an diesem Gemenge betrug ca. 2,0 g.

Nach der Entfernung des Tyrosins etc. hinterblieb ein geringer sirupöser Rest, der die Tryptophanreaktion sehr intensiv gab, aber auch bei längerem Aufbewahren keine Krystallisation mehr absetzte.

Unsere Ergebnisse lassen keinen Zweifel, daß bei der Papayotinverdauung reichliche Mengen der gleichen krystallinischen Spaltungsprodukte entstehen können, wie sie sich auch bei der Trypsinverdauung bilden. Dagegen haben wir Penta- und Tetramethyldiamin, die für weitgehende Pepsinverdauung charakteristisch sind, nicht darstellen können.