

## Zur Spaltung des Nahrungseiweißes im Darm.

Von

**Otto Cohnheim.**

(Aus dem physiologischen Institut zu Heidelberg.)

(Der Redaktion zugegangen am 10. August 1906.)

Die geläufige Vorstellung, die man sich lange Zeit hindurch über die Resorption des Nahrungseiweißes im Darmkanal der höheren Tiere machte, war bekanntlich, daß die verzehrten Eiweißkörper durch Pepsin und Trypsin zu Pepton gespalten und während der Aufsaugung in der Darmwand restituiert würden. Dazu paßte zwar nicht das reichliche Vorkommen der damals bekannten Aminosäuren im Dünndarm, das Kühne u. a. nachgewiesen hatten. Aber die Lehre entsprach dem Glauben an die sehr gleichartige Zusammensetzung aller eigentlichen Eiweißkörper und sie entsprach dem halb mystischen Respekt vor dem Eiweiß, das die Chemiker so garnicht kannten und von dem man daher annahm, der Tierkörper könnte es nicht aufbauen und dürfe es also auch nicht zu weit abbauen. Die Lehre schien bewiesen durch die bekannten Versuche Hofmeisters und Neumeisters von dem Verschwinden des Peptons bei der Berührung mit der Darmwand. Sie verlor ihre Grundlage, als ich zeigte, daß das Verschwinden des Peptons in der Darmwand auf seiner Spaltung durch das Erepsin beruht, und ich habe damals sofort die Anschauung vertreten, daß das Eiweiß bis zu den Aminosäuren abgebaut und in dieser Form resorbiert würde.<sup>1)</sup> Weitere Stützen für diese Anschauung waren das reichliche Auftreten von verschiedenen Amino- und Diaminosäuren im Darminhalt, das Kutscher und

<sup>1)</sup> O. Cohnheim, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 451 (1901).

Seemann<sup>1)</sup> feststellten, die gelungenen Versuche von Löwi<sup>2)</sup> und später von Henriquez und Hansen,<sup>3)</sup> das Eiweiß in der Nahrung durch seine tryptischen Spaltungsprodukte zu ersetzen, das Auftreten der Amino- und Diaminosäuren jenseits der Darmwand bei Oktopoden, das ich feststellen konnte,<sup>4)</sup> und besonders endlich die durch die Untersuchungen von Kossel und von Emil Fischer gewonnene Erkenntnis von den großen Unterschieden im Aufbau der einzelnen Eiweißkörper. Freilich ließ sich daraus und aus den tatsächlichen Befunden im Darm nur schließen, daß das Eiweiß recht weit abgebaut wird. Ein Teil wurde sicher zu Aminosäuren, aber ein anderer Teil konnte auch in größeren Komplexen bleiben, eine Möglichkeit, die in anderem Zusammenhange Kossel<sup>5)</sup> erörtert. Und diese Möglichkeit gewann an Wahrscheinlichkeit durch die Entdeckung von Emil Fischer und Abderhalden,<sup>6)</sup> daß das Trypsin die Eiweißkörper nicht zu Ende spaltet, daß vielmehr ein gewisser Teil in Form einer oder mehrerer abiureter Polypeptide ungespalten bleibt.

Diese Entdeckung ist von großer Bedeutung für die Konstitution des Eiweißes und für die Wirkung des Trypsins. Dagegen darf man, wie Emil Fischer und Abderhalden sofort bemerken, daraus nicht ohne weiteres Schlüsse auf das Geschehen im lebenden Organismus machen. Denn wenn auch das Trypsin die Eiweißkörper nicht vollständig spaltet, so tut es vielleicht ein weiteres proteolytisches Ferment, mit dem das Nahrungseiweiß vor seiner Resorption in Berührung kommt.

<sup>1)</sup> Fr. Kutscher und J. Seemann, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIV, S. 528 (1902).

<sup>2)</sup> O. Löwi, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol., Bd. XLVIII, S. 303 (1902).

<sup>3)</sup> V. Henriquez und C. Hansen, Diese Zeitschrift, Bd. XLIII, S. 417 (1905).

<sup>4)</sup> O. Cohnheim, Diese Zeitschrift, Bd. XXXV, S. 396 (1902).

<sup>5)</sup> A. Kossel, Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 347 (1905).

<sup>6)</sup> E. Fischer und E. Abderhalden, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIX, S. 81 (1903); Bd. XL, S. 215 (1903). — E. Abderhalden, *ibid.*, Bd. XLI, S. 17 (1905). — E. Abderhalden und B. Reinbold, *ibid.*, Bd. XLVI, S. 159 (1905).



das Erepsin. Es sprach manches dafür, daß die Spaltung der Peptone durch Erepsin vollständiger war als die durch Trypsin. Ich habe seinerzeit gefunden,<sup>1)</sup> daß nach der Pepsin-Erepsin-Spaltung 29,9% des Stickstoffs der Muskeleiweiße durch Phosphorwolframsäure fällbar sind, während Hart<sup>2)</sup> in den bekannten Stoffen dieser Fällung 27,14% gefunden hatte. Da die Phosphorwolframsäure noch mehr fällt als diese, sprach das Resultat gegen ein reichliches Vorhandensein eines unspaltbaren Polypeptids. Da aber das Erepsin die damals noch unbekannte Arginase enthalten haben konnte, war der Befund nicht ganz beweisend. Ferner habe ich schon in meiner ersten Mitteilung<sup>3)</sup> über das Erepsin die Schnelligkeit erwähnt, mit der das Erepsin bei manchen Albumosen und besonders bei Peptonen die Biuretreaktion vernichtet, eine Schnelligkeit, die unvergleichlich viel größer ist, als ich sie je auch bei den wirksamsten Trypsinlösungen gesehen habe. Beweisend sind auch diese Versuche nicht, da ja ein abiuretes Peptid übrig geblieben sein konnte, wenn ich auch bei der Untersuchung der Phosphorwolframate der Hexonbasen nicht auf ein solches gestoßen bin.

Es war also geboten, die kombinierte Spaltung des Eiweißes durch Pepsin und Erepsin von neuem daraufhin zu untersuchen, ob sie eine vollständige war wie die Säurehydrolyse, oder ob ein gewisser Anteil des Eiweißes sich ebenso unangreifbar erweist, wie gegenüber dem Trypsin. Die Methodik war gegeben. Denn da eine Methode, Peptone und Peptide von den basischen Spaltungsprodukten des Eiweißes zu trennen, nicht existiert, mußte ich der Versuchsanordnung von Emil Fischer und Abderhalden folgen. Ich fällte das Verdauungsgemisch mit Phosphorwolframsäure, saugte ab, zerlegte den Niederschlag mit Baryt, unterwarf ihn der Hydrolyse durch Schwefelsäure von 33% und fällte nun von neuem mit Phosphorwolframsäure. War bei der Spaltung mit Pepsin und Erepsin ein Peptid übrig geblieben, das Monoaminosäuren enthielt, so mußten diese nun

<sup>1)</sup> O. Cohnheim, Diese Zeitschrift, Bd. XXXV, S. 134 (1902).

<sup>2)</sup> E. Hart, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 347 (1901).

<sup>3)</sup> O. Cohnheim, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 460 (1901).

im Filtrat der zweiten Phosphorwolframsäurefällung zu finden sein. Ich habe aber hierbei überhaupt keine irgend in Betracht kommenden Mengen von Stickstoff mehr auffinden können. Das Erepsin spaltet also die untersuchten Eiweißkörper vollständig oder doch nahezu vollständig.

Von Eiweißkörpern habe ich teils käufliches Edestin aus Hanfsamen untersucht, das nach Abderhalden und Reinbold besonders reichliche Mengen der nicht durch Trypsin spaltbaren Polypeptide enthält, teils das leicht zugängliche Syntonin aus Muskelfleisch, das ich genau so gewann, wie es Hart<sup>1)</sup> beschrieben hat.

Als Erepsinlösungen habe ich teils einfach die Schleimhautextrakte von Katzendärmen benutzt und sie nur vor dem Gebrauch 24 Stunden dialysiert: teils habe ich aus Hundedärmen in der früher beschriebenen Weise durch Ammonsulfat und Dialysieren gereinigte Erepsinlösungen dargestellt. Das Pepsin war das Pepsinum siccum purissimum von Grüber.

Um tunlichst physiologische Bedingungen zu haben, ließ ich die Pepsinverdauung möglichst weit gehen. In der Untersuchung der Eiweißverdauung haben die Albumosen Jahrzehnte lang eine viel zu große Rolle gespielt, heute wissen wir durch Tobler,<sup>2)</sup> daß sie auch physiologisch nur ein vorübergehendes Durchgangsprodukt sind. Nur sehr geringe Mengen von Albumosen passieren den Pylorus, der weitaus größte Teil des Eiweißes erreicht den Dünndarm schon in Form von Pepton. Ich weiß von früher her, was mehrere Nachuntersucher nicht beachtet haben, daß Pepton von Erepsin unvergleichlich viel schneller gespalten wird als Albumosen. Eine lange Pepsinverdauung mit hohen Salzsäurekonzentrationen wollte ich vermeiden, ganz nachahmen läßt sich der kunstvolle Mechanismus des Pylorusreflexes natürlich nicht. Ich habe mich einer Methodik bedient, die ich für derartige Untersuchungen sehr warm empfehlen kann, der Verdauung in Dialysierschläuchen. Ich füllte Eiweiß, Salzsäure von 0,4% und Pepsin in Pergamentschläuche

<sup>1)</sup> E. Hart, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 347 (1901).

<sup>2)</sup> L. Tobler, Diese Zeitschrift, Bd. XLV, S. 185 (1905).



und hing sie in Gefäße, die mit Salzsäure von der gleichen Konzentration gefüllt waren: das Ganze natürlich bei Körpertemperatur. Dadurch erreicht man, daß die leichtest dialysierbaren Produkte der Pepsinverdauung, Peptone und Peptide, der weiteren Fermentwirkung entzogen werden, und daß gleichzeitig immer neue Salzsäure dem Fermente zur Verfügung steht.<sup>1)</sup> Die Peptonisierung schreitet unter diesen Umständen rasch fort. Im Dialysat findet man fast ausschließlich Pepton und zwar schon nach wenigen Stunden in reichlicher Menge, im Innern der Schläuche finden sich daneben Albumosen.

Auch die Erepsinverdauung mußte ich in möglichst kurzer Zeit vor sich gehen lassen. Man hat sich in den letzten Jahren vielfach an eine übermäßig lange Ausdehnung der Verdauungsversuche gewöhnt. Ein Ferment, das physiologisch von Bedeutung sein soll, muß stark genug sein, um in kürzester Zeit zu wirken, so wie es von Pepsin und Trypsin bekannt ist und wie es Kossel und Dakin<sup>2)</sup> bei der Arginase gefunden haben.

Ich lasse die Versuche folgen:

1. 10 g Edestin werden in Dialysierschläuchen 24 Stunden mit Pepsin verdaut. Im Dialysat sind 1,225 g N. Dazu 100 ccm Erepsinlösung (1 Hundedarm lieferte 420 ccm). Nach 75 Min. noch starke Biuretreaktion, nach 2 Stunden nur noch sehr schwach. Nach 20 Stunden mit etwas Essigsäure kurz aufgekocht, filtriert. Filtrat 1740 ccm. Auf 5% Schwefelsäure gebracht, mit Phosphorwolframsäure gefällt. Im Filtrat sind 0,844 g N = 69%. Der Niederschlag wird mit Baryt zerlegt, 5 Stunden mit Schwefelsäure von 33% auf dem Sandbade gekocht, die Schwefelsäure entfernt und von neuem mit Phosphorwolframsäure gefällt. In dem 295 ccm messenden Filtrat sind 67 mg Stickstoff enthalten, d. i. 5,5% des vorhandenen Stickstoffs.

<sup>1)</sup> Zur Untersuchung der tryptischen Verdauung ist die Dialyse von Sheridan Lea (Journ. of Physiol., Bd. XI, S. 226 (1890) verwendet worden.

<sup>2)</sup> A. Kossel und H. D. Dakin, Diese Zeitschrift, Bd. XLI, S. 321 (1904); Bd. XLII, S. 181 (1904).

2. 20 g Edestin werden 46 Stunden in Dialysierschläuchen mit Pepsin verdaut. Das Dialysat, das 1,95 g N enthält, wird neutralisiert und 20<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Stunden mit 320 ccm gereinigtem Hunderepsin verdaut (1 Darm = 420 ccm), und wie oben behandelt. Im Filtrat der 2. Phosphorwolframsäurefällung, das 600 ccm beträgt, sind 63 mg N = 3,3% des vorhandenen Stickstoffs.

Ferner wird Syntonin aus Rindfleisch 19 Stunden in Dialysierschläuchen mit 20 g Pepsin verdaut. Das Dialysat sind 10,12 l und enthält 6,66 Stickstoff; es gibt bei der Sättigung mit Ammonsulfat nur eine minimale Trübung, aber eine sehr starke Biuretreaktion. Phosphorwolframsäure gibt einen massigen Niederschlag, nach dessen Entfernung das Filtrat noch Spuren von Biuretreaktion zeigt. — Der Inhalt der Dialysierschläuche wird aufgeköcht. Auf dem Filter bleibt eine Niederschlagsmenge von 0,74 g N. Das Filtrat beträgt 3,67 l und enthält 8,58 g N. Halbsättigung mit Ammonsulfat erzeugt eine höchst unbedeutende Opalescenz, vollständige Sättigung einen deutlichen Niederschlag, nach dessen Entfernung sich noch eine starke Biuretreaktion zeigt. Phosphorwolframsäure erzeugt einen dicken Niederschlag, der aber auch nicht ganz vollständig ist.

Mit dem Dialysat wurden 2 Verdauungsversuche gemacht.

3. 2,3 l, enthaltend 1,51 g N, des Dialysats werden neutralisiert, mit etwas saurem kohlen-saurem Natron versetzt, und 18 Stunden mit 125 ccm Hunderepsin (1 Darm = 500 ccm) verdaut. Biuretreaktion vollständig verschwunden. Dann wird unter Zusatz von 120 g Chlornatrium und etwas Essigsäure aufgeköcht, das Filtrat wie oben behandelt. Im Filtrat der 2. Phosphorwolframsäurefällung, das 1 l beträgt, sind 93 mg N vorhanden = 6% des gesamten N.

4. 550 ccm des Dialysats, enthaltend 0,36 g N, werden mit 300 ccm dialysiertem Katzendarmextrakt (4 Därme = 700 ccm) verdaut. Nach 27 Minuten ist die Biuretreaktion schwach, nach 80 Minuten fast verschwunden, nach 2 Stunden 35 Minuten wird koaguliert, und das Filtrat wie oben behandelt. Im Filtrat von der 2. Phosphorwolframsäurefällung, das 280 ccm beträgt, sind 37 mg Stickstoff enthalten, das sind 10% des gesamten Stickstoffs.



Mit dem Inhalt der Dialysierschläuche wurden folgende Versuche angesetzt.

5. 300 ccm = 0,7 g N werden mit 300 ccm dialysiertem Katzendarmextrakt (4 Därme = 700 ccm) 4 Stunden 15 Minuten verdaut, nachdem schon nach 2 Stunden die Biuretreaktion fast verschwunden war. In 360 ccm des Filtrates von der 2. Phosphorwolframsäurefällung sind 65 mg N = 9% des ursprünglichen Stickstoffs.

6. 400 ccm = 0,93 g N werden mit 100 ccm gereinigtem Hunderepsin verdaut (1 Darm = 500 ccm). Biuretreaktion erst nach 48 Stunden verschwunden. Weitere Behandlung wie oben. Im Filtrat nach der 2. Phosphorwolframsäurefällung, das 470 ccm beträgt, sind 70 mg Stickstoff = 7,5% des Gesamtstickstoffs.

7. 400 ccm = 0,93 g N werden mit 120 ccm gereinigtem Hunderepsin verdaut (1 Darm eines kleinen Hundes = 180 ccm). Biuretreaktion nach 5 Stunden sehr schwach, erst nach 48 Stunden verschwunden. Filtrat nach der 2. Phosphorwolframsäurefällung beträgt 490 ccm und enthält 59 mg Stickstoff, das sind 6,3% des Gesamtstickstoffs.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß es jedenfalls nur minimale Mengen sein können, die der Aufspaltung durch das Epsin entgehen. Für die anderen Eiweißkörper machen Fischer und Abderhalden keine Angaben über die Menge des unspaltbaren Peptids, aber für das Edestin beträgt sie nach Abzug der Basen selbst nach 16 tägiger Verdauung etwa ein Drittel des Eiweißes. Dabei sind die von mir gefundenen Zahlen zweifellos noch viel zu hoch. Erstens habe ich die ersten Phosphorwolframsäureniederschläge nicht ausgepreßt, sondern nur abgesogen und einmal mit einer kleinen Menge von Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure gespült; gründlich ausspülen lassen sie sich bekanntlich nicht.<sup>1)</sup> Es müssen also dem Niederschlage noch kleine Mengen des Filtrats anhaften. Zweitens aber sind die Phosphorwolframate der Hexonbasen nicht unlöslich. Für das Arginin liegen hier die genauen Angaben von

<sup>1)</sup> Fr. Kutscher, Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 215 (1900).

(Gulewitsch<sup>1)</sup>) vor: bei dem richtigsten Verhältnis von Base, Schwefelsäure und Fällungsmittel sind danach noch 22 mg Stickstoff im Liter löslich. Nun liegt hier kein reines Arginin vor, sondern ein Gemenge mit den anderen Basen, die Werte sind also zweifellos beträchtlich höher. Bei Versuch 3 und Versuch 6 habe ich mich tatsächlich überzeugt, daß man aus dem Filtrat nach Entfernung der Schwefel- und Phosphorwolframsäure und Einengen mit Phosphorwolframsäure neue Fällungen erhalten kann.

Es kommt hierdurch selbstverständlich eine gewisse Unsicherheit in die Versuche. Nach dem, was ich bei derartigen Fällungen gesehen habe, glaube ich aber, daß durch das Haftbleiben einer kleinen Menge von Monoaminosäuren im Niederschlag und vor allem durch die Löslichkeit der Salze der Hexonbasen die aufgeführten Stickstoffzahlen vollständig erklärt werden. Die Spaltung des Eiweißes durch kombinierte Pepsin-Erepsin-Wirkung ist sicher fast, wahrscheinlich ganz vollständig. Und diese Wirkung geht nicht in Tagen vor sich, sondern, wie man es von einem ordentlichen Verdauungsferment verlangen kann, in Minuten oder Stunden.

Ich bin mir bewußt, daß die mitgeteilten Resultate einiges zu wünschen übrig lassen. Ich teile sie trotzdem mit. Denn ich sehe, daß trotz der Warnung von Fischer und Abderhalden aus ihrer Entdeckung bereits weitgehende physiologische Schlüsse gezogen werden.

<sup>1)</sup> W. Gulewitsch, Diese Zeitschrift, Bd. XXVII, S. 196 (1899).