

Weitere Studien über die normale Verdauung der Eiweißkörper im Magendarmkanal des Hundes.

IV. Mitteilung.

Von

Emil Abderhalden, E. S. London (St. Petersburg) und **Berthold Oppler.**

Aus dem chemischen Institute der Universität Berlin und dem pathologischen Laboratorium des Kais. Instituts für experimentelle Medizin zu St. Petersburg.)

(Der Redaktion zugegangen am 22. März 1908.)

In einer Reihe von Untersuchungen¹⁾ an Fistelhunden ist der Nachweis erbracht worden, daß unter gewöhnlichen Verhältnissen im Mageninhalt Aminosäuren nicht nachweisbar sind, wohl aber findet man solche vom Duodenum angefangen bis hinunter zur Ileocoecalclappe. Ihre Menge war in den einzelnen Darmabschnitten stets sehr gering. Dasselbe Resultat hatten bereits frühere Versuche²⁾ an Hunden ergeben, denen nach reichlicher Fleischfütterung sofort nach dem Tode die einzelnen Darmabschnitte abgebunden worden waren. Auch hier wurden bei der Untersuchung des Inhaltes der einzelnen Darmabschnitte nur geringe Mengen von Aminosäuren gefunden. Wie wiederholt betont worden ist, darf aus diesem Befunde nicht geschlossen werden, daß bei der Verdauung der Proteine im Magendarmkanal und speziell im Duodenum und Dünndarm der Abbau ein nur geringfügiger ist und hauptsächlich kompli-

¹⁾ Emil Abderhalden, Karl Kautzsch u. E. S. London, Studien über die normale Verdauung der Eiweißkörper im Magendarmkanal des Hundes, Diese Zeitschrift, Bd. XLVIII, S. 549, 1906.

Emil Abderhalden, L. Baumann und E. S. London, II. Mitteilung. Ebenda, Bd. LI, S. 384, 1907.

Emil Abderhalden, Kornel v. Körösy u. E. S. London, III. Mitteilung. Ebenda, Bd. LIII, S. 148, 1907.

²⁾ Emil Abderhalden, Abbau und Aufbau der Eiweißkörper im tierischen Organismus, Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 17, 1905.

ziertere Produkte zur Resorption gelangen. Der Grund, weshalb stets nur geringe Mengen einfachster Spaltprodukte im Darm-inhalte aufgefunden werden, kann ebensogut darin liegen, daß die gebildeten Aminosäuren beständig sofort resorbiert werden und somit hauptsächlich kompliziertere Produkte zur Beobachtung gelangen. Immerhin sind wir vorläufig noch keineswegs dazu berechtigt, die Behauptung, daß im Darmkanal die Proteine vollständig abgebaut werden, als einwandfrei erwiesen zu betrachten. Es ist vorläufig kein Weg bekannt, der gestatten würde, diese so wichtige Frage direkt zu entscheiden, und so sind wir darauf angewiesen, durch indirekte Versuche Aufklärung zu suchen. Derartige Untersuchungen sind an und für sich nie eindeutig und es ist, um ihren Wert zu erhöhen, unbedingt notwendig, dieselbe Fragestellung von möglichst verschiedenen Seiten in Angriff zu nehmen und so die Zahl der Möglichkeiten einzuschränken.

Bei der vorliegenden Untersuchung haben wir uns mit der Frage beschäftigt, welche Zusammensetzung die in den einzelnen Darmabschnitten vorhandenen, komplizierter gebauten Produkte haben. Zu deren Trennung von den einfacheren Spaltprodukten verwendeten wir Phosphorwolframsäure. Die fällbaren Produkte untersuchten wir auf Tyrosin und Glutaminsäure. Die erstere Aminosäure wurde direkt als solche isoliert und die letztere als salzsaures Salz. Wir suchten mit der Bestimmung dieser beiden Aminosäuren zwei Fragen zu beantworten. Einmal war es von Interesse festzustellen, ob der Abbau der Proteine im Darmkanal sukzessive vor sich geht, d. h. ob in den tiefer liegenden Darmabschnitten Produkte vorhanden sind, die weiter abgebaut sind, als diejenigen, die z. B. gleichzeitig im Duodenum sich befinden. A priori war es wohl denkbar, daß der Abbau des aus dem Pylorus in den Darm übertretenden Chymus zunächst im Duodenum im wesentlichen bis zu einer bestimmten Abbaustufe fortschreitet und die gebildeten Produkte dann zum Teil resorbiert und zum Teil in tiefer gelegene Darmabschnitte zur weiteren Verdauung geschoben werden. Unsere Versuche geben auf dieses Problem — vorausgesetzt, daß bei den Fistelhunden normale Verhältnisse vorlagen —

eine eindeutige Antwort. Ohne Zweifel passiert ein Teil des Chymus, ehe er einen tiefgehenden Abbau erlitten hat, das Duodenum und gelangt in das Jejunum und Ileum, um offenbar hier weiter abgebaut zu werden. Wir betrachten unsere Versuche nach dieser Richtung als nur vorläufige. Sie ermuntern uns, das gestellte Problem unter den gleichen Gesichtspunkten in größerem Maßstabe mit verschiedenen Proteinen zu verfolgen, besonders auch deshalb, weil der Hauptversuch mit Gliadin, d. h. mit einem Protein ausgeführt worden ist, das in der normalen Nahrung des Hundes nicht vorkommt. Weitere Untersuchungen sind bereits im Gange.

Die zweite Fragestellung, die wir durch diese Untersuchungen zu beantworten suchten, war die, ob im Magendarmkanal der Abbau der Proteine entsprechend stufenweise erfolgt, wie beim künstlichen Verdauungsversuch. In einer Reihe von Arbeiten¹⁾ war der Nachweis geführt worden, daß die verschiedenen Aminosäuren verschieden rasch und vollständig durch Pankreassaft und Darmsaft abgespalten werden. So ist z. B. nach wenigen Tagen das gesamte Tyrosin und Tryptophan des verdauten Proteins in der Verdauungsflüssigkeit im freien Zustande vorhanden, während von der Glutaminsäure usw. erst ein relativ kleiner Teil abgespalten ist. Die Resultate unserer Versuche sprechen dafür, daß im Magendarmkanal der Abbau ganz gleichartig erfolgt, wenigstens fanden wir bei ganz geringem Tyrosingehalt noch große Mengen von Glutaminsäure bei der totalen Hydrolyse der noch komplizierter gebauten, durch Phosphorwolframsäure fällbaren Verdauungsprodukte, ja in dem aus dem Ileum gewonnenen Chymus war Tyrosin überhaupt nicht

¹⁾ Emil Abderhalden und Béla Reinbold, Die Monoamino-säuren des «Edestins» aus Sonnenblumensamen und dessen Verhalten gegen Pankreassaft, Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 284, 1905, und Der Abbau des Edestins aus Baumwollsamensamen durch Pankreassaft, Diese Zeitschrift, Bd. XLVI, S. 159, 1905. — Emil Abderhalden und Alfred Gigon, Vergleichende Untersuchung über den Abbau des Edestins durch Pankreassaft allein und durch Magensaft und Pankreassaft, Ebenda, Bd. LIII, S. 119, 1907. — Emil Abderhalden und Carl Voegtlin, Studien über den Abbau des Caseins durch Pankreassaft, Ebenda, Bd. LIII, S. 315, 1907.

in gebundenem Zustande nachweisbar. Es ist wohl möglich, daß die Abspaltung des Tyrosins schon im Duodenum und Jejunum zu einer fast vollständigen wird, und dann die an Glutaminsäure gewissermaßen angereicherten Bruchstücke in die tieferen Darmabschnitte weiter befördert werden.

Es fragt sich, ob aus den gewonnenen Resultaten irgend ein Rückschluß auf den Grad der Hydrolyse gezogen werden kann, den die Proteine im Magendarmkanal erleiden. Sicher sprechen unsere Ergebnisse nicht gegen die Annahme, daß die Proteine normalerweise tief abgebaut werden. Würden komplizierter gebaute Abbauprodukte beständig resorbiert werden, so wäre zu erwarten, daß die aus den Fisteln aufgefangenen Produkte eine ähnliche Zusammensetzung haben würden, vorausgesetzt, daß die Resorption der verschiedenartigen Abbauprodukte nicht eine sehr verschieden leichte ist. Überblicken wir unsere Resultate nach dieser Richtung, dann ergibt sich, daß im Duodenum ein sehr weitgehender Abbau stattgefunden hat, wie vor allem der niedrige Glutaminsäuregehalt zeigt. Im Jejunum finden wir wieder Produkte, die viel mehr Glutaminsäure gebunden enthalten, als die durch Phosphorwolframsäure fällbaren Substanzen des Chymus aus dem Duodenum. Auch im Ileum ist viel Glutaminsäure in gebundener Form vorhanden, während das Tyrosin ganz fehlt. Diese Befunde erwecken eher den Eindruck, als ob der Abbau fortlaufend stufenweise vor sich geht und die Resorption erst bei einfacheren Produkten einsetzt. Ein bestimmtes Urteil wollen wir absichtlich nicht abgeben, denn die Zahl der Versuche ist vorläufig viel zu gering und die Resultate noch zu vieldeutig. Wir können nur sagen, daß die erhaltenen Ergebnisse nicht gegen die Annahme eines weitgehenden Abbaus der Proteine im Magendarmkanal sprechen.

Was nun die angewandte Methode anbetrifft, so ist folgendes zu bemerken. Der aus einer bestimmten Fistel aufgefangene Chymus wurde, wie das auch bei den früheren Versuchen geschehen ist, aufgeköcht und dann bei etwa 40° zur Trockene eingedunstet. In diesem Zustand stellt das Verdauungsprodukt eine feste, bröcklige, nicht unangenehm riechende Masse dar. Sie läßt sich in gut verschlossenen Flaschen ohne irgend

welche Fäulnis oder sonstige Zersetzung aufbewahren. Eine abgewogene Menge des eingetrockneten Chymus wurde dann in soviel Wasser gelöst, daß die Lösung etwa 1% an fester Substanz aufwies. Dann wurde soviel Schwefelsäure zugegeben, bis die Lösung davon 5% enthielt. Nun wurde mit einem geringen Überschuß einer ziemlich konzentrierten Lösung von Phosphorwolframsäure gefällt, der Niederschlag abgenutscht, mit 5%iger Schwefelsäure ausgewaschen und wiederholt scharf abgepreßt und schließlich noch unter der hydraulischen Presse bis 300 Atmosphären Druck von den letzten Resten von Mutterlauge befreit. Den nunmehr steinharten, trockenen Niederschlag zerrieben wir in einer Reibschale mit etwa der doppelten Menge seines Gewichtes an Baryt. Die innige Mischung wurde dann entweder in einer Flasche nach Zusatz von Wasser auf der Schüttelmaschine geschüttelt oder in einem dickwandigen Becherglas turbiniert. Aus dem Filtrat des phosphorwolframsauren Baryts entfernten wir den Überschuß an Baryt quantitativ mit Schwefelsäure und engten dann das Filtrat vom Baryumsulfat auf etwa 1 l ein. In je 5 ccm stellten wir dann den N-Gehalt fest. Den Rest der Flüssigkeit versetzten wir mit soviel Schwefelsäure, daß die Lösung davon 25% enthielt, und kochten dann die schwefelsaure Lösung 16 Stunden am Rückflußkühler, um das Verdauungsprodukt vollständig zu hydrolysieren. Dann entfernten wir die Schwefelsäure quantitativ mit Baryt und engten das Filtrat vom Baryumsulfat ein, solange Tyrosin sich abschied. Seine Abscheidung verfolgten wir mit Hilfe der Millonschen Reaktion. Gab das Filtrat damit keine Rotfärbung mehr, dann wurden die abgeschiedenen Krystallmassen vereinigt und aus heißem Wasser unter Anwendung von Tierkohle umkrystallisiert. Die Mutterlauge des Rohtyrosins und des umkrystallisierten Tyrosins wurden vereinigt, stark eingengt und dann gasförmige Salzsäure bis zur Sättigung eingeleitet. Auf diese Weise schieden wir die Glutaminsäure als salzsaures Salz ab. Auch hier wurde die jeweilige Mutterlauge der erhaltenen Krystallisation eingengt und stehen gelassen, bis schließlich kein Glutaminsäurechlorhydrat mehr vorhanden war. Die auf diese Weise erhaltene salzsaure Glutaminsäure ist noch sehr unrein. Sie

muß aus wässriger Salzsäure unter Anwendung von Tierkohle umkrystallisiert werden. Die Erfahrung hat gezeigt, daß die Abscheidung der salzsauren Glutaminsäure besser und vollständiger gelingt, wenn die Lösung nicht allzu konzentriert ist und nicht mit Salzsäure vollständig gesättigt wird. Wir haben uns jedesmal durch die Bestimmung des Chlorgehaltes von der Reinheit des gewonnenen Produktes überzeugt. Schließlich haben wir die Mutterlauge des Rohglutaminsäurechlorhydrates und des umkrystallisierten Produktes vereinigt, dann unter vermindertem Druck zur Trockene verdampft und den Rückstand verestert. Zu dieser Untersuchung verwendeten wir die entsprechenden Mutterlaugen aus den als Serie I bezeichneten Versuchen. Die Verarbeitung der Ester ergab, daß Glutaminsäure nicht mehr vorhanden war. Ihre Abscheidung als salzsaures Salz war somit eine sehr vollständige gewesen. In Übereinstimmung mit früheren Beobachtungen¹⁾ stellten wir fest, daß der mit Phosphorwolframsäure fällbare Teil des Chymus sehr reichlich Prolin und auch viel Phenylalanin und Glykokoll enthält.

Im folgenden sind die Resultate der einzelnen Versuche angeführt.

1. Chymus aus Duodenalfistel: Angewandt 190 g. Sie enthielten 23,18 g N = 12,20%.

Beim Zusatz von Schwefelsäure zu der wässrigen Lösung entstand ein Niederschlag. Er wog 35 g und enthielt 3,22 g N.

Das mit Phosphorwolframsäure fällbare Produkt enthielt 11,84 g N. Die bei der Hydrolyse dieses Produktes mit 25%iger Schwefelsäure entstehenden Huminsubstanzen wogen 3,4 g und enthielten 0,095 g N.

Erhalten wurden 0,75 g Tyrosin und 2,5 g Glutaminsäurechlorhydrat.

Die salzsaure Glutaminsäure war allerdings nicht ganz rein. Sie enthielt statt der berechneten 19,32% Cl nur 17,88%. An Rohprodukt waren 7,0 g erhalten worden.

¹⁾ Emil Fischer und Emil Abderhalden, Über die Verdauung einiger Eiweißkörper durch Pankreasfermente. Diese Zeitschrift, Bd. XXXIX, S. 81, 1903, und Über die Verdauung des Caseins durch Pepsinsalzsäure und Pankreasfermente, Ebenda, Bd. XL, S. 215, 1903.

1. Serie. Gliadinfütterung.

Versuchs- hund	Lage der Fistel	Dauer der Aus- scheidung in Stunden	Zahl der Fütte- rungen	Menge des jedes- mal gege- benen Glia- dins in g	Gesamt- menge des verab- reichten Glia- dins in g	Brei aus der Fistel auf- ge- nom- men in g	N des ver- ab- reichten Glia- dins in g
Rjabtschik (tschorny ¹⁾)	Ende des Duo- denums	3 ¹ / ₂ —4	7	30	210	2205	25,83
Shúlik	Mitte des Dünn- darmes	6—6 ¹ / ₂	6	100	600	980	73,80
Rjabtschik zóly	1 m vom Coecum	7—8	6	200	1200	1320	147,60

2. Jejunum: Angewandt 200 g Chymus. Diese enthielten 24,59 g N = 12,3%. Beim Ansäuern der wässrigen Lösung mit Schwefelsäure fielen 17,5 g einer flockigen Masse aus. Das mit Phosphorwolframsäure fällbare Produkt enthielt 11,79 g N. Beim Hydrolysieren mit 25% iger Schwefelsäure entstand 1 g Huminsubstanz (0,025 g N).

Isoliert: 1,1 g Tyrosin und 20,9 g salzsaure Glutaminsäure. Sie war in drei Fraktionen gereinigt worden. Die Analyse ergab für Cl die Werte: 19,21%, 19,09% und 19,31%. Durch einen Unfall waren etwa 2 g rohes Glutaminsäurechlorhydrat verloren gegangen.

3. Ileum: Angewandt 250 g = 31,94% N = 12,78%. Nach dem Ansäuern der wässrigen Lösung mit Schwefelsäure entstand ein 26,5 g wiegender Niederschlag = 1,94 g N. Die mit Phosphorwolframsäure fällbaren Produkte enthielten 11,124 g N. An Huminsubstanzen entstanden 4,2 g.

¹⁾ In das Jejunum wurden während des Versuches zwecks Regulierung des Pylorus peptische Verdauungsprodukte mit transpylorischen Säften vermischt eingeführt.

Tyrosin konnte hier nur in Spuren isoliert werden. An Glutaminsäurechlorhydrat wurden 33 g erhalten. Sie enthielten 18,64% Cl.

2. Serie. Caseinfütterung und Fleischfütterung.

Ver- suchs- hund	Nahrung	Lage der Fistel	Dauer der Aus- scheidung in Stunden	Zahl der Fütte- rungen	Menge des jedes- mal gege- benen Futters in g	Ge- samt- menge der verab- reich- ten Nah- rung in g	Ge- samt- brei aus der Fistel aufge- nom- men in g	N des ver- ab- reich- ten Fut- ters in g
Starik	Fleisch	2 m vom Pylorus	7—7½	9	500	4500	1850	139,50
Cygan	Casein	1 m vom Coecum	7½—8	7	100	700	750	77,56

Ileumfistelhund: Cygan. Fistel 1 m vom Coecum entfernt.
Angewandt 180 g Chymus = 12,5% N.

Beim Ansäuern mit Schwefelsäure fiel auch hier ein schmieriger, flockiger Niederschlag aus. Er wurde abzentrifugiert. Die mit Phosphorwolframsäure fällbaren Produkte enthielten 12,0% N.

Isoliert: 0 g Tyrosin und 4,0 g Glutaminsäurechlorhydrat (19,40% Cl).

Ileumfistelhund: Starik. Fistel 2 m vom Pylorus entfernt.
Angewandt 200 g Chymus = 12,5% N.

Die mit Phosphorwolframsäure fällbaren Produkte enthielten 10,8% N.

Isoliert: 0 g Tyrosin und 6,5 g Glutaminsäurechlorhydrat (19,6% Cl).

Ohne weitere Berechnung ergeben sich die weiter vorne besprochenen Resultate aus dieser Übersicht.