

# Zum Chemismus der Verdauung im tierischen Körper.

## XXXII. Mitteilung.

### Zur Frage über den Grad der Eiweißspaltung im Darmlumen.

Von

**E. S. London und F. J. Riwoch-Sandberg.**

(Aus dem pathologischen Laboratorium des Kaiserl. Institutes für experimentelle Medizin zu Petersburg.)

(Der Redaktion zugegangen am 6. April 1909.)

Die Analysen der Verdauungsprodukte des Eiweißes, welche wir aus verschiedenen Abschnitten des Darmtraktes bei der Polyfistelmethode bekommen (aus dem Duodenum, Jejunum, Ileum und ileocoecalem Teile), zeigen, daß diese Produkte zum größten Teile aus komplizierteren Abbauprodukten bestehen und daß sich nur in kleiner Proportion darin freie Mono-<sup>1)</sup> und Diaminosäuren<sup>2)</sup> befinden. Wollte man aus diesen Daten einen Schluß betreffs der Form der Abbauprodukte, in welcher das Eiweiß das Darmlumen blutwärts verläßt, ziehen, so würde man auf Schwierigkeiten stoßen: es sind zweierlei Deutungen dieser Erscheinung möglich: einerseits kann man annehmen, daß das Eiweiß, indem es die Oberfläche des Darmepithels verläßt, dieselbe Zusammensetzung hat, wie wir sie im Darinchymus vorfinden, d. h. vorzugsweise in Form von komplizierteren Abbauprodukten

<sup>1)</sup> Emil Abderhalden, Karl Ventzsch und E. S. London, Studien über die normale Verdauung der Eiweißkörper im Magendarmkanal des Hundes. Diese Zeitschrift, Bd. XLVIII, S. 545; Emil Abderhalden, L. Baumann und E. S. London, Weitere Studien über die normale Verdauung der Eiweißkörper im Magendarmkanal des Hundes. Diese Zeitschrift, Bd. LI, S. 384; Emil Abderhalden, Kornel v. Körösy und E. S. London, Weitere Studien über die normale Verdauung der Eiweißkörper im Magendarmkanal des Hundes, Diese Zeitschrift, Bd. LIII, S. 148.

<sup>2)</sup> E. S. London, Zur Verdauung und Resorption basenreicher Eiweißsubstanzen im Darmkanal, Diese Zeitschrift, Bd. LVI, S. 378.

von winzigen Mengen freier Aminosäuren begleitet; anderseits ist es aber auch leicht möglich, daß das Eiweiß, bevor es durch die Oberfläche des Darmepithels aufgenommen wird, sich in einzelne Aminosäuren spaltet; wenn aber die Analyse der Fistelexkretionen umgekehrtes Verhältnis vorzeigt, so könnte man es sich dadurch erklären, daß die einfacheren Bausteine sofort nach deren Abspaltung aus dem Darmchymus aufgesaugt werden.

Um die Frage, ob die freien Aminosäuren in der Wirklichkeit schneller aus dem Darmlumen verschwinden als die komplizierteren Abbauprodukte, zu beantworten, entschlossen wir uns, mit unseren sogenannten Resorptionshunden eine Reihe von speziellen Versuchen anzustellen. Gelegentlich sei es erwähnt, daß bei unseren Resorptionshunden die zu prüfenden Substanzen durch einen Darmabschnitt, welcher zwischen 2 Fisteln sich befindet, geleitet werden, wobei Vorrichtungen den Zutritt der Säfte aus den höher liegenden Teilen gänzlich verhindern. Also erleiden bei diesen Tieren die prüfenden Substanzen die Wirkung nur derjenigen Säfte, die von der Oberfläche des Darmepithels des genannten Darmabschnittes — des Darmsaftes — abgesondert werden. Folglich muß bei der Beurteilung der Resultate die Wirkung nur eben dieses Saftes im Darmlumen *in vivo* in Betracht gezogen werden.

Wir haben unsere Versuche mit 4 Resorptionshunden — *Janus*, *Ljeschka*, *Žulik* und *Zygan* — angestellt.

Beim ersten Hunde *Janus* sind die beiden Fisteln (doppelte und mit einer Scheidewand) folgendermaßen angelegt: die proximale liegt im Anfang des Duodenums unmittelbar hinter dem Pylorus; die distale im Anfang des Jejunums hinter der Stelle, wo der Darm aus dem Gekröse hervorgeht. Also wird das ganze Duodenum während des Versuches zwischen den beiden Fisteln isoliert. In die anale Fistel der ersten Fistelröhre wird vor dem Versuche ein Propfen mit einem Röhrensystem (Einleitungs-, Ableitungs- und Einspritzungsrohr) eingeleitet, und der Ballon wird hinter der ersten Papilla aufgebläht. Die Säfte ergießen sich durch das Ableitungsrohr aus der ersten Papilla nach außen. Der zweite Pankreasgang war während der Operation

abgebunden und durchschnitten, so daß das während des Versuches isolierte Duodenum von äußeren Säften ganz frei war.

Das Kölbchen zum Sammeln der Exkretion wird an die Distalfistel gebunden. Wenn man die Exkretionsweise beobachtet, so ist leicht zu bemerken, daß die sich ausscheidende Flüssigkeit die Scheidewand der Fistelröhre nicht überschreitet, was von großer Wichtigkeit in der Hinsicht ist, daß der Versuch quantitative Resultate gibt.

Beim zweiten (*Ljeschka*), dritten (*Zulik*) und vierten (*Zygan*) ist die Proximalfistel (eine doppelte) am Duodenum, 5—6 cm von der zweiten Pankreasapilla entfernt, angelegt. Die Distalfistel ist eine einfache, nicht doppelte, aber groß genng (22 mm im Querschnitt), um das Exkret quantitativ zu bekommen. (Durch die Fistelröhre ist die schmale Öffnung des hinter der Fistel liegenden Darmteiles klar zu sehen.) Am Jejunum ist bei *Ljeschka* die Fistel ungefähr 50—60 cm von der ersten Fistelröhre entfernt, bei *Zulik* 1½ m, bei *Zygan* 2 m.

Als Material zur Einführung in den Darm konnten wir dreierlei wählen: am richtigsten wäre es, uns mit der Einführung durch die Darmabschnitte bei unseren Hunden nur auf diejenigen Verdauungsprodukte zu beschränken, welche wir von unseren Verdauungshunden mit den Darmfisteln (nach dem Zerstören der Fermente) bekommen. Wir verzichten aber bisweilen auf dieses Material aus dem Grunde, weil diese Produkte nur in sehr geringen Mengen freie Aminosäuren enthalten. Um die für die quantitativen Bestimmungen nötigen Mengen zu bekommen, insofern überhaupt die Rede von quantitativen Analysen gesamer Aminosäuren, bei relativ kleinem Prozentgehalt derselben im Versuchsmaterial sein kann, wäre eine dauernde Sammlung des Materials nötig. Freilich drängt sich eben dieses Material zu den Versuchen von selbst auf, und wir haben auch die Absicht, in der nächsten Zukunft sie anzustellen.

Die zweite Möglichkeit in der Auswahl des Materials, die wir vorhatten, hätte darin bestehen können, daß wir zu den obengenannten Produkten der Darmfistelsekretionen bestimmte Mengen von Aminosäuren zugeben und damit die Versuche erleichtern konnten. So verfahren wir auch.

Nummer des Versuches	Resorptions- hunde:	Eingeführte Flüssigkeit		Zurückgewonnene Flüssigkeit		Differenz zwischen der eingeführten und zurück- gewonnenen Flüssigkeit	
		Menge in ccm	Gesamt-N in g	Menge in ccm	Gesamt-N in g	Menge in %	Gesamt-N Verhältnis
I	a)	95	0,408	65	0,322	32	21
II	a)	95	0,495	65	0,369	32	25
III	a)	90	0,637	70	0,540	22	15
IV	a)	95	0,408	50	0,297	47	27
V	b)	95	0,495	55	0,333	41	34
VI	b)	90	0,637	60	—	33	—
VII	c)	240	2,806	320	1,647	33	41
VIII	c)	500	2,500	105	0,730	79	71
A. Gliadinverdauungsprodukte.							
IX	a)	95	0,730	101	0,604	6	17
X	a)	95	0,730	100	0,549	5	25
XI	b)	95	0,730	102	0,470	7	36
XII	b)	95	0,730	100	0,452	5	38
B. Glykokoll.							
XIII	a)	95	0,615	101	0,452	6	26
XIV	b)	95	0,615	103	0,377	8	39
C. d-Alanin.							

U

Nummer des Versuches	Resorptions- hunde: a) Janus b) Ljeschka c) Zülk d) Zygan	Eingeführte Flüssigkeit		Zurückgewonnene Flüssigkeit		Differenz zwischen der eingeführten und zurück- gewonnenen Flüssigkeit		
		Menge in ccm	Gesamt-N in g	Menge in ccm	Gesamt-N (Filtrat) in g	Menge in %	Gesamt-N in %	
<b>D. Gliadinverdauungsprodukte + Glykoll.</b>								
XV	a	85	0,661	90	0,519	+ 6	21	17
XVI		90	0,683	91	0,463	+ 1	32	
XVII		85	1,021	122	0,776	+ 44	24	
XVIII		95	1,158	117	1,040	+ 23	10	
XIX	b	85	0,661	95	0,504	+ 12	24	35
XX		90	0,683	92	0,443	+ 2	35	
XXI		85	1,021	127	0,867	+ 49	15	
XXII		95	1,158	132	1,016	+ 39	12	
<b>E. Gliadinverdauungsprodukte + d-Alamin.</b>								
XXIII	a	85	0,612	70	0,434	18	29	45
XXIV		85	0,747	72	0,456	15	39	
XXV		85	1,092	93	0,785	9	30	
XXVI		85	0,612	55	0,348	35	43	
XXVII	b	85	0,747	55	0,426	35	43	36
XXVIII		85	1,092	80	0,699	6	36	
XXIX		170	2,645	80	0,574	83	78	
XXX		240	2,806	320	1,647	33	41	
XXXI	c	390	3,120	110	0,870	72	72	61
XXXII		490	3,900	230	1,500	53	61	

100 : 71

100 : 116

In einer Versuchsreihe leiteten wir durch den Darm des Hundes das Material von natürlicher Zusammensetzung, in der anderen reine Lösungen von Aminosäuren und in der dritten ein Gemisch des einen wie des andern.

Bei diesen Bedingungen brachten wir in den Versuch einige Ungenauigkeit ein, da sogar die normalen Produkte der Darmverdauung eine gewisse Menge freier Aminosäuren enthalten. Von diesem Standpunkte aus wäre es vielleicht zweckmäßiger (und das wäre die dritte Möglichkeit), die Produkte nicht der Darm-, sondern die der Magenverdauung zu gebrauchen, welche bekanntlich keine Aminosäuren enthalten. Wir handelten aber anders aus zwei Gründen: 1. hatten wir die Absicht, in den Grenzen der vollen Norm zu bleiben, indem wir in den Darm diejenigen Produkte einleiteten, welche ihm eigen sind: 2. ist der Gehalt an freien Aminosäuren in den Fistelexkretionen aus dem Dramtraktus im Vergleich mit der Menge, welche wir hinzufügten, zu minimal, um ein wirkliches Hindernis unseren Analysen darboten zu können, um so mehr, da eine von den von uns gebrauchten Aminosäuren, und zwar das Glykokoll, allen Wahrscheinlichkeiten nach in den höheren Abteilungen des Darmtraktus sich überhaupt nicht abspaltet.

Als natürliches Produkt der Eiweißverdauung im Darm gebrauchten wir das ausgetrocknete Filtrat der Exkretionen des Ileumhundes (Zolty Rjabtschik) nach der Fütterung mit Gliadin. Wir hielten dieses Material in Form eines Pulvers in einer Flasche mit eingeschliffenem Stopfen aufbewahrt und nahmen daraus jedesmal die nötige Menge, welche wir in destilliertem Wasser lösten. Von Aminosäuren wählten wir das Glykokoll und d-Alanin: das erstere der Möglichkeit seiner quantitativen Bestimmungen wegen: das zweite als Muster einer optisch-aktiven Aminosäure.

Unsere Versuche bestanden darin, daß wir unseren Hunden durch die zwischen den Fisteln liegenden Darmabschnitte Lösungen der obengenannten Substanzen einleiteten, deren Konzentration den Ergebnissen unserer bisherigen Versuche angepaßt war.

Bei allen Versuchen wurde die Flüssigkeit mit derselben Geschwindigkeit eingeleitet, und zwar je 10 Sekunden je 1 ccm.

Die aus der Analfistel gewonnene Flüssigkeit wurde mit Essigsäure angesäuert und nach dem Aufkochen abfiltriert; das Filtrat wurde auf ein bestimmtes Volumen gebracht, ein Teil davon zur Stickstoffbestimmung genommen und der Rest auf dem Wasserbade bis zur Trockene eingedampft.

Das Material von gleichnamigen Versuchen, welches Glykokoll oder d-Alanin enthielt, wurde zusammengebracht und der Analyse nach Emil Fischers Estermethode<sup>1)</sup> unterworfen, indem jedesmal die Zusammensetzung des Materials in Betracht gezogen wurde.

Das Material, welches das Glykokoll sowohl, als auch die sich beim Kochen nicht absetzenden Darmsaftreste enthielt (Versuche IX—XII, S. 265), wurde fein zerrieben, in 6facher Menge absoluten Alkohols aufgenommen und der Veresterung mit trockenem Salzsäuregas unterworfen. Der langen Sättigung mit Salzsäuregas ungeachtet, blieb immer auf dem Boden des Gefäßes ein geringer unlöslicher Niederschlag zurück; der letztere wurde abfiltriert und, wie die Untersuchung bewies, bestand er aus Mineralsalzen, augenscheinlich aus den Körpersäften herrührend. Das Filtrat wurde auf Eis gebracht; schon nach kurzer Zeit erstarrte die Flüssigkeit zu einer krystallinischen Masse. Nach 2 Tagen wurden die Krystalle abgesaugt und im Vakuumexsikkator über Kalk und Schwefelsäure getrocknet. Die Mutterlauge wurde eingengt, wieder auf Eis gebracht und der weiteren Krystallisation überlassen. Nach 2 Tagen wurden die Krystalle abgesaugt und das Filtrat bis zur Trockene eingedampft und im Vakuumexsikkator getrocknet. Das letztere könnte zur Glykokollausscheidung mittels der Destillation des Esters dienen, bei der kleinen Menge des vorliegenden Materials aber hätten wir gewiß großen Verlust gehabt, da viel Substanz verloren gegangen wäre, so daß es uns richtiger erschien, auf die Verunreinigungen zu verzichten, welche übrigens ganz gering waren; auf dem Boden der Schale waren ganz reine charakteristische nadelartige Krystalle, nur ein wenig braun gefärbt. Die Reinheit der zwei ersten Krystallisationen

<sup>1)</sup> Vgl. Emil Abderhalden, Neuere Ergebnisse auf dem Gebiete der Eiweißchemie, Jena 1909.

wurde durch eine Chlorbestimmung festgestellt. Im allgemeinen bekamen wir nur wenig kleinere Mengen des Glykokolls, als es nach dem Stickstoff des Ausgangsmaterials zu erwarten war:

Berechnet nach dem N. . . . . 4,4.

Gewonnen durch direkte Analyse 4,2.

Diese gut übereinstimmenden Zahlen machten die unmittelbare Ausscheidung des reinen d-Alanins durch Veresterung in den Versuchen XIII und XIV überflüssig, und man kann auch seinen Gehalt nach dem N berechnen, unsomehr, da das d-Alanin, wie bekannt, keine quantitative Ausbeute liefert.

Das Material von den Versuchen XV—XXII, S. 277 und 278, welches einen Teil der unresorbierten Verdauungsprodukte des Gliadins und Glykokolls enthielt, wurde für die Glykokollausscheidung folgenderweise bearbeitet: das fein zerriebene Pulver aus den vereinigten Resten der obenerwähnten zwei Versuchsserien wurde in zwei Gefäßen in absolutem Alkohol aufgenommen und der Ätherisation mit trockenem Salzsäuregas unterworfen. Nach dem Eindampfen in vacuo wurde das Material der zweiten Veresterung überlassen, dann abfiltriert und mit absolutem Alkohol gewaschen. Die Filtrate wurden auf dem Wasserbade eingeeengt und auf Eis zur Krystallisation gebracht. Nach 3 Tagen wurden die Krystalle abgesaugt, mit einer kleinen Menge eiskaltem absolutem Alkohol gewaschen und zur späteren Verarbeitung verwahrt. Die zurückgebliebenen Filtrate wurden wieder in vacuo eingedampft und wieder esteri- fiziert, worauf sie in vacuo auf dem Wasserbade bei der Temperatur von 40° C. stark eingedampft, in sehr geringer Menge Wasser gelöst und in einem entsprechenden Gefäße in eine Kältemischung eingebracht wurden; dann wurde allmählich in kleinen Portionen Ätznatron hinzugefügt, mit Kaliumcarbonat gut geschüttelt. Nach wiederholtem Ausziehen mittels Äther, wieder mit Kaliumcarbonat geschüttelt, abfiltriert und über entwässertem Natriumsulfat auf Eis gebracht und 24 Stunden lang stehen gelassen. Daraufhin folgte die Destillation in vacuo bei 10 mm Druck auf dem Wasserbade bei 100° C. und endlich die Verseifung mittels Wasser auf übliche Weise. Das Material, welches wir bekommen haben, wurde mit entsprechenden oben-

erwähnten Portionen Glykokollesterchlorhydrat zusammengemischt. Die Gemische wurden mit der 5fachen Menge absoluten Alkohols begossen, esterifiziert, und nach 3tägigem Stehen auf Eis wurden die Krystalle abgesaugt, das Filtrat auf dem Wasserbade eingengt und wieder auf Eis zur weiteren Krystallisation gebracht. Die nach 3 Tagen abgesaugten Krystalle wurden zu den entsprechenden Produkten der ersten Krystallisation hinzugefügt und nach dem Trocknen im Vakuumexsikkator über Kalk und Schwefelsäure zur Gewichtskonstanz gebracht und nach dem Chlorgehalt identifiziert. Das Material von Janus enthielt 2,473 g N. In Form von Glykokollesterchlorhydrat erhielten wir 6,6 g. Also ist es klar, daß 1 g Stickstoff in den entsprechenden Produkten 2,7 g Glykokoll entspricht.

Dieses Verhältnis ist als Grundlage der Berechnungen des Glykokollgehalts in jedem Versuche XV—XVIII nach dem Stickstoff der aus der Analfistel sich ausscheidenden Flüssigkeit genommen worden.

Selbstverständlich wäre es viel richtiger, die Glykokollbestimmungen für jeden Versuch apart zu machen, bei der winzigen Menge des Materials aber riskierten wir zu große Fehler.

In Zukunft haben wir die Absicht, die Versuche in großem Maßstabe anzustellen, was uns von der Notwendigkeit kollektiver Analysen frei macht.

Das Material von *Ljeschka*, von den Versuchen XIX—XXII gesammelt, enthielt 1,739 g N und gab uns reinen Glykokollesterchlorhydrat 7,5 g, was 5 g Glykokoll entspricht. Also kommen auf 1 g Gesamtstickstoff der Exkretionsprodukte 2,9 g Glykokoll, was uns als Grundlage der Glykokollberechnungen in den entsprechenden Versuchen diene.

Das Material, welches wir für d-Alanin von Verdauungsprodukten des Gliadins in den Versuchen XXIII—XXXII bekommen haben, analysierten wir nach Emil Fischers Estermethode auf seinen Alaningehalt. Aus dem Filtrat den von *Zygan* und *Ljeschka* gesammelten Fistelsekretionen, nach dem Einführen von Gliadin mit d-Alanin, nahmen wir 32 g ausgetrockneter Substanz und bekamen nach der Verseifung der Ester 6,58 g d-Alanin. Selbstverständlich war in diesem Falle die Reinheit

der erhaltenen Aminosäure nicht einwandfrei, da aus den Verdauungsprodukten etwas Aminosäuren und somit auch Alanin mit übergehen konnte. Da es sich jedoch um unbedeutende Mengen handelt, wie es die bisherigen Analysen zeigten (0,1 g freier Aminosäuren konnten übergehen), konnten wir sie vernachlässigen.

Nun müssen wir unsere Aufmerksamkeit darauf lenken, daß die Ausscheidung des d-Alanins aus einem Gemisch mit den Darmverdauungsprodukten als quantitativ nicht angesehen werden kann. Um eine Vorstellung von der Ausbeute, welche wir bei unseren Manipulationen erhalten, zu bekommen, stellten wir parallel ein Gemisch von 10 g d-Alanin und 10 g der genannten Gliadinverdauungsprodukte zusammen. Nach der Esterifikation und Verseifung bekamen wir 7 g zurück. Folglich stimmen die von uns aus der Versuchsexkretion erhaltenen 6,58 g mit den in dieser Exkretion erhaltenen 9—10 g Alanin wirklich überein. Der Gesamtstickstoff dieser Exkretion war 3,4 g; wenn wir annehmen, daß 10 g d-Alanin darin waren, so kommen auf seinen Teil 1,57 g N. Folglich ist das Verhältnis des d-Alaninstickstoffs zu dem Stickstoff der Verdauungsprodukte = 100 : 116. Im Material, welches zur Einführung diente, ist dieses Verhältnis = 100 : 71.

Aus all dem Gesagten folgt also, daß, wenn das d-Alanin allein eingeführt, *ceteris paribus* ein wenig besser resorbiert wird, als die Fistelverdauungsprodukte, welche verhältnismäßig arm an Aminosäuren sind; es scheint aber besonders aus einem Gemisch dieser beiden Komponenten resorbiert zu werden.

Wir finden unter anderem ein nicht gleiches Verhältnis des Darmkanals zu dem unaktiven Glykokoll und zu dem aktiven d-Alanin, indem letztere besser resorbiert wird als das erstere. Gäbe das d-Alanin eben solche quantitative Ausbeute wie das Glykokoll, so könnte diese Schlußfolgerung mehr begründet sein; da die Sache anders sich verhält, so sind wir genötigt, in diesen Daten die Anregung zu weiteren ausführlicheren Untersuchungen, welche teils auch schon im Gange sind, zu suchen.

Aus den Daten der Tabelle ist weiter zu ersehen, daß die geprüften Aminosäuren eine stark erregende Wirkung auf die Darm-saftabsonderung ausüben: aus der analen Fistel wird eine größere Menge Flüssigkeit erhalten, als in die orale eingeführt worden ist.