

Beitrag zur Kenntnis der Enterolipase.

Von

B. C. P. Jansen.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Universität Amsterdam,
Direktor Prof. Dr. G. van Rynberk.)

(Der Redaktion zugegangen am 19. August 1910.)

Noch haben die Worte ihre Geltung nicht verloren, mit welchen W. Connstein sein Referat über fermentative Fettspaltung¹⁾ schließt: « daß das Quantum an tatsächlich sichergestellten Beobachtungen in einem bemerkenswerten Gegensatz steht zu der Anzahl der angeführten Veröffentlichungen.

Widersprüche und Kontroversen selbst in den grundlegendsten Angaben sind an der Tagesordnung, und es erscheint fast unmöglich, auf dem bisher Beschriebenen ohne weiteres zu bauen, da alle Grundlagen wanken. Und umsomehr erscheint es wünschenswert, daß dies Kapitel, das zu den interessantesten der allgemeinen Biologie gehört, von recht vielen Seiten kritisch und experimentell durchgearbeitet wird. »

Vom Pankreas steht es heute ohne jeden Widerspruch fest, daß es ein lipolytisches Ferment enthält (s. Connstein l. c.).

Das Vorkommen eines lipolytischen Fermentes im Magensaft ist hingegen mehr angezweifelt worden. Erst seit 1901 ist durch Volhard und seine Schüler festgestellt worden, daß der Magensaft lipolytisch wirkt, aber nur auf emulgierte Fette. Daß diese Wirkung dem Magensaft, und nicht etwa rückfließendem Darminhalt verdankt wird, hat Heinsheimer²⁾ bewiesen mit Hilfe des Saftes eines kleinen Pawlowschen Ma-

¹⁾ W. Connstein, Ergebnisse der Physiol., 3, I (1904).

²⁾ Heinsheimer, D. Med. Woche, Bd. XXXII, S. 1194 (1906).

gens. Auch London,¹⁾ der durch Anwendung einer speziellen Operationsmethode absolut reinen Magensaft erhielt, fand, daß dieser Saft emulgierte Fette, wenn auch wenig, spaltet.

Der Darmsaft ist viel weniger als der Magen- und Pankreassaft auf Lipase geprüft worden. Erst durch die Angaben Lombrosos,²⁾ der eine lipolytische Wirkung des Darmsaftes unabhängig von jeder Bakterienwirkung feststellte, und durch die grundlegende Arbeit Boldyreffs³⁾ ist die Existenz einer Enterolipase ganz sicher gestellt. Über die streitigen Angaben der früheren Autoren schreibt Boldyreff:

« Solange man den Darmsaft noch nicht in reinem Zustande zu gewinnen verstand, war es natürlich schwer, seine wirklichen Eigenschaften kennen zu lernen; im allgemeinen war man zuerst geneigt, ihm eine starke verdauende Wirkung auf die verschiedenen Nahrungsstoffe (Eiweiß, Fette und Kohlenhydrate) zuzuschreiben, indem man irrtümlicherweise die energische Wirkung des Pankreassaftes, der unvermeidlich den Bedingungen der Methodik entsprechend dem Darmsaft sich beimischte, für die Wirkung des letzteren hielt.

« Vor 40 Jahren ungefähr hat Thiry eine geistreiche Methode zur Gewinnung reinen Darmsaftes angegeben, die in der Folge von Vella modifiziert und vervollkommnet wurde. Doch hier entstand unerwartet eine neue große Schwierigkeit. Wenn man nämlich den Darmsaft sammelt, ohne die zur Fistel abgeteilte Schleimhaut zu reizen, so ist die Sekretion so schwach, daß einige Forscher sie überhaupt nicht bemerkten und behaupteten, daß in den oberen Abschnitten des Dünndarms ohne Reiz überhaupt kein Saft, sondern nur Schleim abgesondert wird.

« Aus diesem Grunde begann man nun, um zur Untersuchung genügend große Mengen Darmsaftes zu erhalten, diesen oder jenen Reiz auf die Schleimhaut des Darmes auszuüben. »

¹⁾ London, Diese Zeitschrift, Bd. L, S. 125, und Bd. LVI, S. 545.

²⁾ U. Lombroso, Atti del Congresso di Patologia in Firenze. 1903.

³⁾ W. Boldyreff, Die Lipase des Darmsaftes und ihre Charakteristik, Diese Zeitschrift, Bd. L, S. 394. Siehe auch: Archives des sciences biolog., St.-Petersbourg, Tome XI, 1905.

« . . . Wenn man der starken künstlichen Verdünnung des Darmsaftes, die man bei Reizung der Darmschleimhaut erhält, nicht die nötige Bedeutung zuschreibt, kann man zu dem Schluß kommen, daß der Darmsaft keine verdauenden Fermente enthalte. Dieser Fehler ist eben von der Mehrzahl der Forscher begangen worden.»

Boldyreff hat gefunden, daß der Darm periodisch, ohne jede Reizung der Mucosa, sowohl im Hungerzustande, als auch während der Verdauung, einen, schwächer als der Pankreassaft, aber doch deutlich lipolytischen Saft secerniert. Im Hungerzustande wird aus einer Schlinge von 25 cm Länge ungefähr jede 2 Stunden während 15 Minuten 1 bis 1,5 ccm Saft abgesondert. Während der Verdauung ist die Absonderung weniger regelmäßig (in jeder Periode wird ungefähr die gleiche Menge abgesondert, die Perioden sind aber seltener).

Wir sehen deshalb, daß wir mit Hilfe einer Thiry-Vellaschen Fistel leicht einen, wenn auch ziemlich schwach wirkenden, lipolytischen Saft bekommen können. In vorliegender Arbeit habe ich nun versucht, einige Bedingungen festzustellen, unter welchen dieser Darmsaft secerniert wird.

Für diese Versuche habe ich drei nach der Thiry-Vellaschen Methode operierte Hunde benutzt. Bei diesen Hunden beobachtete ich nun, daß mitunter, wenn ich den spontan fließenden Saft auffing, dicke Stücke mit aus der Fistel kamen. Das lipolytische Vermögen dieser Stücke war ein wenig größer als das des übrigen Saftes. Um deshalb vergleichbare Resultate zu erhalten, habe ich immer, ehe ich mit meinen Hunden experimentierte, die Fistel mit auf 37° erwärmter physiologischer Kochsalzlösung durchgespült, so lange bis keine Stücke mehr herauskamen.

Boldyreff prüfte den Saft auf Lipase mit einer 1%igen Lösung des Monobutyryns in Wasser, mit Milch und mit Olivenöl. Nun ist aber Monobutyryn nicht in jeder Hinsicht zu vergleichen mit natürlichen Fetten (es wird z. B. schon durch Wasser allein gespalten) und weil wir wissen, daß die Fermente sehr spezifisch wirken, so wird es wahrscheinlich, daß eine Monobutyrynase ein anderes Ferment ist als die Lipase (siehe z. B. den

Streit über die Lipase oder Monobutyrylase des Bluteserums zwischen Hanriot und Arthus.¹⁾

Die Milch hat den Nachteil, daß sie neben den Fetten noch andere Bestandteile enthält, und so habe ich die Prüfung immer mit Olivenöl angestellt.

Die Lipase des spontan fließenden Darmsaftes ist, wie auch Boldyreff betont, sehr schwach. Ich habe deshalb den Saft während längerer Zeit einwirken lassen und bin immer, wenn nicht anders angegeben ist, folgendermaßen verfahren: Am Abend ungefähr um 6 Uhr wurden 2 ccm des Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + 3 Tropfen alkoholischer Thymollösung in einen auf 40° erwärmten Thermostaten gebracht und darin bis zum folgenden Morgen geschüttelt: dann wurde die Mischung in Alkohol gegossen, um die hydrolytische Spaltung der Seife zu unterbrechen, und die entstandene Ölsäure mit 0,1063-n-Natronlauge und mit Phenolphthalein als Indikator titriert. 1 ccm dieser Lauge entspricht demgemäß ungefähr 0,03 g Ölsäure und somit einer Spaltung von zirka 1 1/2 %).

Auf diese Weise konnte ich die Ergebnisse Boldyreffs bestätigen: daß nur ganz wenig Saft spontan abgesondert wird; daß dieser Saft wohl sehr haltbar, aber schwach lipolytisch ist (Unterschied mit dem Bauchspeichel).

Z. B.: 30. III. 1910. Vom Hunde 2 während 7 1/2 Stunden 8 ccm Saft aufgefangen. 2 ccm hiervon macht in ± 18 Stunden aus 2 ccm Olivenöl soviel Säure frei, daß sie durch 1,85 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird. Immer hatte der Saft ungefähr ein lipolytisches Vermögen wie in obigem Beispiel.

Über die Haltbarkeit der Lipase mögen folgende Experimente Auskunft geben:

11. IV. 10. Hund 2. 2 ccm heute spontan secernierter Saft + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol gibt in ± 18 Stunden soviel Säure, daß sie durch 2,2 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

12. IV. 10. 2 ccm des gestern aufgefangenen (und bei Zimmertemperatur aufbewahrten) Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol gibt in ± 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 2,8 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

Nun hat Lombroso²⁾ gefunden, daß man eine weit größere

¹⁾ Arthus, Journal de phys. et path. gén., Bd. IV, S. 455 (1902).

²⁾ Lombroso, Arch. Ital. de Biol., T. L, fasc. III, 1908.

Quantität viel stärker lipolytisch wirkenden Saftes erhalten kann, wenn man in die Fistel eine Lösung von Fettsäure (Ölsäure) in Galle hineinführt.

Er schreibt: «Dès 1903 j'avais observé que le suc entérique qui coule d'une anse de Vella soit spontanément après le repos, soit par suite de l'administration de petites doses de pilocarpine est légèrement lipolytique.

De 2 cc. de cette sécrétion avec 5 cc. d'huile d'amandes douces, il se développe (en présence de thymol) au bout de trois à six heures dans le thermostat à 40° une quantité d'acide oléique telle, qu'elle exige 1,5–2,5 cc. de soude $\frac{1}{10}$ n. pour qu'il soit neutralisé. . . .»

« . . . En étudiant l'action de la muqueuse intestinale par rapport aux acides qui se forment pendant la digestion (acides gras, acide chlorhydrique, lactique, carbonique, etc.) j'avais observé que, en introduisant dans une anse de Vella, une solution d'acide gras (acide oléique dissous dans de la bile) il se déterminait une très abondante sécrétion d'un suc dense et visqueux. Cette sécrétion est doué d'une importante activité lipolytique; de 2 cc. de sécrétion plus 5 cc. d'huile d'amandes douces, en présence de thymol, il se développe, au bout de trois à six heures dans le thermostat à 40° une quantité d'acide oléique, telle qu'il faut 6, 7, 8 cc. et même plus de soude $\frac{1}{10}$ n. pour qu'il soit neutralisé.»

Über die Art der Wirkung des Galle-Fettsäuregemisches hat Lombroso, mit andren verdauungsphysiologischen Problemen beschäftigt, jedoch keine Versuche angestellt. Seine Beobachtungen konnte ich vollkommen bestätigen. Auch ich habe Pilocarpin angewendet und zwar auf doppelte Weise: subcutan und lokal in der Fistel.

Bei subcutaner Eingabe von 5 ccm einer 1‰ Pilocarpinlösung wurden in 3 bis 4 Stunden nur 4 ccm Saft abgesondert (somit ebensoviel wie ohne Eingabe des Pilocarpins). Dieser Saft hatte auch das lipolytische Vermögen des normalen Saftes:

2 ccm dieses Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 1,5 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

Über die Wirkung der lokal in die Fistel hineingebrachten Pilocarpinlösung mögen folgende Versuche Auskunft geben:

1. IV. 10. Hund 3. In die orale Öffnung der Fistel werden 2,5 ccm 0,1‰ige Pilocarpinlösung gegeben. Hierauf secernieren 5 ccm Saft. 2 ccm dieses Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 0,85 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

2. IV. 10. Hund 2. In die Fistel gegeben 2 ccm 0,1%ige Pilocarpinlösung. Aufgefangen 10 ccm Saft. 2 ccm dieses Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in + 20 Stunden soviel Säure, daß diese durch 0,80 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

Dieser Saft ist also viel weniger lipolytisch als der spontan ausfließende. Dies stimmt sehr gut überein mit dem Befunde Boldyreffs, daß man wohl durch Anwendung von Reizmitteln eine größere Quantität des Damsaftes erhalten kann, daß aber dieser Saft sehr wenig Fermente enthält.

Durch einen besonderen Versuch habe ich mich vergewissert, daß die schwächere lipolytische Wirkung nicht etwa der beigemischten Pilocarpinlösung zuzuschreiben ist: denn Zusatz von Pilocarpin zu spontan abgesondertem Saft vermindert die lipolytische Wirkung desselben keineswegs.

Die Angabe Lombrosos über die ganz besondere Reizwirkung der Mischung von Galle + Ölsäure hat sich auch in meinen Versuchen vollkommen bewährt:

Z. B.: 12. IV. 10. Hund 1. In die Fistel gegeben 5 ccm einer 10%igen Emulsion von Ölsäure in Galle. In 30 Minuten aufgefangen 28 ccm Saft. 2 ccm dieses Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + 3 Tropfen alkoholischer Thymollösung geben in + 20 Stunden soviel Säure, daß diese durch 4,9 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

20. IV. 10. Hund 3. In die Fistel gegeben 5 ccm einer 10%igen Emulsion von Ölsäure in Galle. In 30 Minuten aufgefangen 20 ccm Saft. 2 ccm dieses Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + 3 Tropfen alkoholischer Thymollösung geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 8,1 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

8. IV. 10. Hund 2. In die Fistel gegeben 3 ccm einer Emulsion von Ölsäure in Galle. In 15 Minuten 25 ccm Sekret aufgefangen. 2 ccm dieses Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß sie durch 7,0 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

Der auf Galle + Ölsäure abgesonderte Saft war immer, dem Anschein nach, sehr viskös und schleimig.

Weiter konnte ich die Angabe Lombrosos bestätigen, daß auch eine wässrige HCl-Lösung (0,1 normal) eine reichliche Saftabsonderung hervorruft, welcher Saft aber viel weniger stark lipolytisch wirkt:

Z. B.: 11. III. 10. Hund 2. In die Fistel gegeben 10 ccm einer 0,1-n-HCl-Lösung. In 10 Minuten werden 10 ccm Saft abgesondert. 3,3 ccm dieses Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 1,8 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

24. VI. 10. Hund 2. In die Fistel gegeben 7 ccm 0,1-n-HCl. In 30 Minuten 20 ccm Saft aufgefangen; in weiteren 90 Minuten noch 18 ccm. 2 ccm dieses Saftes, vermisch mit 2 ccm neutralem Olivenöl + Thymol, geben in \pm 18 Stunden soviel Säure, daß sie durch 1,5 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

Nun könnte man denken, daß die Salzsäure, die ja eine unter physiologischen Verhältnissen im Darne vorkommende Säure ist, spezifisch wirkt; wir haben aber gefunden, daß eine andere Säure, wie die Schwefelsäure, eben dieselbe Wirkung hat (der Saft ist aber anscheinend weniger lipolytisch als der auf HCl erhaltene):

27. VI. 10. Hund 2. Um dem Einwand zu entgehen, daß aus der zum Durchspülen der Fistel gebrauchten NaCl-Lösung mit der Schwefelsäure Salzsäure gebildet wird, wurde diesmal die Fistel mit physiologischer Na_2SO_4 -Lösung durchgespült und alsdann 6 ccm 0,1-n- H_2SO_4 in die Fistel gegeben. In 30 Minuten fließen nun aus der aboralen Öffnung 19 ccm Saft.

2 ccm dieses Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 0,4 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

Diese Reizung durch Säuren stimmt wieder gut mit den Angaben Boldyreffs, daß man durch Anwendung von Reizmitteln weniger stark lipolytischen Saft bekommt. Die Reizung aber durch die Mischung von Ölsäure mit Galle ist eine sehr eigentümliche, weil man hierdurch sowohl eine große Quantität, wie auch einen stark lipolytischen Saft bekommt. Lombroso hatte offenbar die Mischung von Ölsäure mit der Galle deshalb gewählt, weil diese Säure bekanntlich in Galle ziemlich löslich ist. Man könnte nun fragen, ob die Anwesenheit des Lösungsmittels notwendig ist und ob nicht vielleicht die Ölsäure allein dieselbe Wirkung hat. Um diese Frage zu beantworten, haben wir Ölsäure ohne Galle in die Fistel gebracht (2 ccm oder 2 mal hintereinander 1 ccm). Aus der aboralen Öffnung floß in diesem Falle sehr wenig einer weißen, dicken Substanz ab, die ohne jede lipolytische Wirkung war. Die Ölsäure übt demnach keine nennenswerte safttreibende Wirkung aus. Weil nun die Galle augenscheinlich dazu dient, um die Ölsäure in bessere Berührung mit der Darmmucosa zu bringen.

lag es auf der Hand, zu versuchen, durch Emulgierung der Ölsäure einen besseren Kontakt zustande zu bringen. Wir haben deshalb versucht, die Ölsäure durch Schütteln mit Wasser zu emulgieren, und die so erhaltene, grobe Emulsion in die Fistel gegeben. Hierauf haben wir aber keine nennenswerte Quantität Sekret bekommen.

Da nun bekanntlich Seifenlösung sehr stark emulgierend auf Ölsäure wirkt, so haben wir 3 ccm Ölsäure, statt mit Wasser, mit 30 ccm 0,1-n-Lauge geschüttelt. Von der so entstandenen Emulsion von Ölsäure in Seifenlösung haben wir einige Kubikzentimeter beim Hunde 1 in die Fistel gegeben. 2 ccm des aus der aboralen Öffnung der Fistel fließenden Saftes erforderten, in Alkohol ausgegossen, 1,2 ccm 0,1-n-Lauge zur Neutralisation. Der Saft hatte kein lipolytisches Vermögen. Dies ist aber vielleicht darauf zurückzuführen, daß in wässriger Lösung die Seife stark hydrolytisch gespalten ist; nun ist wohl ein Übermaß von Ölsäure anwesend, aber die Ölsäure ist eine schwache Säure und sehr wenig löslich in Wasser; es ist deshalb sehr wahrscheinlich ein Übermaß OH-Ionen in der Lösung; nun ist aber die Enterolipase in alkalischer Lösung, wie wir gefunden haben (s. w. u.), unwirksam.

Weil nun weder die Ölsäure für sich, noch in (grob) emulgiertem Zustande in die Darmschlinge hineingebracht, einen lipolytischen Saft hervorruft, und auf eine Säure wie HCl wohl viel Saft, aber ein solcher von geringem lipolytischen Vermögen abgesondert wird, so lag die Vermutung nahe, daß in der Mischung von Ölsäure + Galle nicht die Ölsäure, sondern die Galle das wirksame Agens ist. Wir haben also, statt der Mischung von Galle + Ölsäure, die Galle allein in die Fistel gebracht. Dabei haben wir gefunden, daß man bei Einführung von Galle allein eine geringere Quantität Saft bekommt, als durch Galle + Ölsäure; durchschnittlich kam aus der aboralen Öffnung doppelt soviel heraus, als in die orale Öffnung hineingebracht worden war. Das lipolytische Vermögen war aber ungefähr ebenso stark wie das des auf Galle + Ölsäure erhaltenen Saftes:

Z. B.: 5. IV. 10. Hund 1. In die Fistel 8 ccm Galle gegeben.

Hierauf secerniert 15 ccm Saft. 2 ccm dieses Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in \pm 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 5,5 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

4. IV. 10. Hund 3. In die Darmschlinge 7 ccm Galle gebracht. Aufgefangen 15 ccm Saft. 2 ccm hiervon + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 6,5 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

Wir sehen also, daß Einführung von Galle in die Darmschlinge aktivierend wirkt, sowohl auf die Saftabsonderung, als auch auf die lipolytische Wirkung desselben. Es liegt nun die Frage nahe, ob die Galle vielleicht auch in vitro aktivierend auf die lipolytische Wirkung des spontan, ohne Hineinführen von Galle in die Fistel, aufgefangenen Darmsaftes wirkt. Dies ist bekanntlich der Fall bei der Pankreaslipase.¹⁾

Boldyreff behauptet, daß die Galle gar keine fördernde Wirkung auf die Lipolyse des Darmsaftes ausübt. Frouin²⁾ dagegen schreibt der Galle sowohl in vitro wie in vivo (in einer isolierten Darmschlinge) eine Verstärkung der Wirkung der Enterolipase zu.

Kalabonkoff und Terroine³⁾ bestätigten die Angabe Frouins insofern, als sie fanden, daß die fettspaltende Wirkung des Darmsaftes durch gallensaure Salze gefördert wird.

Ich kann die Angaben der beiden letzten Autoren durchaus bestätigen. Ohne Ausnahme habe ich gefunden, daß Galle in vitro die Fettspaltung durch Enterolipase beschleunigt.

Z. B.: 7. IV. 10. Hund 3. 2 ccm spontan aufgefangener Saft + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in \pm 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 2,3 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

2 ccm desselben Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol + 2 ccm Galle geben in \pm 18 Stunden soviel Säure, daß sie durch 7,6 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

Daß die Galle auch bei kurzer Dauer des Versuchs aktivierend wirkt, geht aus folgendem hervor:

11. IV. 10. Hund 2. 2 ccm spontan abgesonderter Saft + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in 6 Stunden soviel Säure, daß diese durch 1,1 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

¹⁾ Oppenheimer, Die Fermente, 3. Aufl., II, S. 188/9.

²⁾ Frouin, C. r. de la Soc. de Biol., Bd. LXI, S. 665.

³⁾ Kalabonkoff und Terroine, Compt. r. de la Soc. de Biol., Bd. LXIII, S. 617.

2 ccm desselben Saftes + 2 ccm Galle + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in 6 Stunden soviel Säure, daß diese durch 3,0 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

Auch die schwache Lipolyse des auf Eingeben von Pilocarpin erhaltenen Saftes wird sehr verstärkt durch Hinzufügen von Galle in vitro:

2. IV. 10. Hund 2. 2 ccm des auf Eingeben von Pilocarpin erhaltenen Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 0,8 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

2 ccm desselben Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + 2 ccm Galle + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß sie durch 11,15 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

Sogar die Lipolyse des auf Eingeben von Galle oder von Galle + Ölsäure erhaltenen Saftes (welcher ja [s. o.] schon viel stärker fettspaltend wirkt als der spontan abgesonderte Saft) wird in vitro gefördert durch Hinzufügen von Galle.

Z. B.: 5. IV. 10. Hund 1. 2 ccm auf Galle abgesonderter Saft + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 5,5 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

2 ccm desselben Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + 2 ccm Galle + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß sie durch 8,4 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

12. IV. 10. Hund 1. 2 ccm auf Galle + Ölsäure erhaltener Saft + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in 20 Stunden soviel Säure, daß sie durch 4,9 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

2 ccm desselben Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + 2 ccm Galle + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Ölsäure, daß diese durch 7,9 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

Um dem Einwand zu entgehen, daß die Verstärkung der lipolytischen Wirkung darauf zu beziehen sei, daß die Galle selbst die Fette spaltet, habe ich fast immer Kontrollproben angestellt mit neutralem Öl und Galle.

Hierbei habe ich wohl gefunden, daß Galle allein lipolytisch wirkt; diese Lipolyse ist aber im Anfang schwach und erreicht erst nach längerer Zeit einen bedeutenden Wert.

Daß jedoch die Galle die Lipolyse des Darmsaftes verstärkt und nicht die Lipolyse des Saftes + Galle eine Superposition ist der Lipolyse des Darmsaftes + die Lipolyse der Galle, geht daraus hervor, daß ich immer gefunden habe:

Lipolyse des Saftes + Galle ist stärker als Lipolyse des Saftes + Lipolyse der Galle:

Z. B.: 21. V. 10. Hund 3. 2 ccm Saft + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in + 40 Stunden soviel Säure, daß diese durch 4.15 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

2 ccm desselben Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + 2 ccm Galle + Thymol geben in + 40 Stunden soviel Säure, daß diese durch 9.35 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

2 ccm neutrales Olivenöl + 2 ccm Galle + Thymol geben in + 40 Stunden soviel Säure, daß diese durch 0,8 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

Die Differenz wird besonders deutlich bei kurzer Einwirkung:

21. III. 10. Hund 3. 2 ccm Saft + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in 6 Stunden soviel Säure, daß diese durch 1,0 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

2 ccm Galle + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in 6 Stunden soviel Säure, daß sie durch 0.4 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

Dagegen: 2 ccm desselben Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + 2 ccm derselben Galle + Thymol geben in 6 Stunden soviel Säure, daß diese durch 5,4 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

Daß Galle allein bei längerer Einwirkung stark fettspaltend wirkt, geht hervor aus folgendem Versuch:

26. V. 10. In Flasche I gebracht: 50 ccm frische Galle + 5 ccm neutrales Olivenöl + 20 Tropfen einer alkoholischen Thymollösung (5 ccm dieser Mischung, mit Phenolphthalein als Indikator, nach Eingießen in Alkohol titriert, erfordern 0,7 ccm 0,1063-n-Lauge zur Neutralisation). Die Flasche wird im Thermostaten bei 40° geschüttelt.

28. V. 10. 5 ccm, von Flasche I abpipettiert, werden durch 7,0 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert.

3. VI. 10. 5 ccm, von Flasche I abpipettiert, werden durch 12 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert. Diese 12 ccm Lauge entsprechen ungefähr $12 \times 0,03$ g Ölsäure. Es ist also roh der $\frac{55/5 \times 12 \times 0,03}{5} = 4/5$ Teil des Öls gespalten.

Es wäre nun möglich, wenn auch nicht sehr wahrscheinlich, daß vielleicht die Förderung der Lipolyse durch Galle eine rein physikalische Wirkung ist, darin bestehend, daß die Galle mit Öl eine Emulsion bildet. Wir haben darum versucht, das Öl auf andere Weise zu emulgieren, nämlich durch Seifenlösung. Statt einer Verstärkung haben wir aber immer eine erhebliche Hemmung konstatiert.

Z. B.: 1. IV. 10. Hund 3. 2 ccm nach Eingabe von Pilocarpin in die Fistel erhaltener Saft + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 0,85 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

2 ccm desselben Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + 2 ccm neutrale Seifenlösung (diese wurde erhalten durch Neutralisieren von Ölsäure mit einer entsprechenden Quantität + 0,1-n-Lauge) + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 1,60 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

4. IV. 10. Hund 3. 2 ccm auf Galle erhaltener Saft + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 6,5 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

2 ccm desselben Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + 2 ccm neutrale Seifenlösung (erhalten wie oben) geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 1,60 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

5. IV. 10. Hund 1. 2 ccm auf Galle erhaltener Saft + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß sie durch 5,50 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

2 ccm desselben Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + 2 ccm neutrale Seifenlösung (erhalten wie oben) + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 1,0 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

Wie wir schon oben betont haben, ist eine Seife in wässriger Lösung stark hydrolytisch gespalten, so daß nach dem Auflösen einer neutralen Seife in Wasser in der Lösung ein Übermaß OH-Ionen anwesend ist (die Ölsäure ist eine schwache Säure).

Nun ist die Enterolipase sehr empfindlich gegen Lauge; wenn wir eine Mischung des Darmsaftes mit Öl durch Hinzufügen von ein wenig Lauge alkalisch machten, dann konnten wir sie tagelang im Thermostaten bei 40° schütteln, ohne daß sich die alkalische Reaktion änderte, mit anderen Worten; ohne daß Lipase stattfindet.

Daß schon ein sehr geringer Überschuß von Lauge die Lipase aufhebt, geht aus folgenden Versuchen hervor:

12. IV. 10. Hund 1. 2 ccm nach Einführung von Galle erhaltener Saft erfordert 0,5 ccm 0,1063-n-Lauge zur Neutralisation.

2 ccm dieses Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 4,6 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

2 ccm desselben Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + 0,2 ccm 0,1063-n-Lauge + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 4,4 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

2 ccm desselben Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + 0,4 ccm 0,1063-n-Lauge + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 3,9 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

2 ccm desselben Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol + 0,6 ccm 0,1063-n-Lauge bewahrt dauernd die alkalische Reaktion.

12. IV. 10. Hund 1. 2 ccm eines auf Eingeben einer Mischung von Galle mit 10%iger Ölsäure in die Fistel erhaltenen Saftes wird, nach Eingießen in Alkohol, neutralisiert durch 1,2 ccm 0,1063-n-Lauge.

2 ccm dieses Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 4,9 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

2 ccm dieses Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + 0,8 ccm 0,1063-n-Lauge + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 1,4 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

2 ccm dieses Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + 1,0 ccm 0,1063-n-Lauge + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 0,9 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

2 ccm dieses Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + 1,2 ccm 0,1063-n-Lauge + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 0,2 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

2 ccm dieses Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + 1,4 ccm 0,1063-n-Lauge + Thymol bleiben alkalisch reagieren.

Daß eine Seifenlösung (auch im letzteren Beispiel ist die Hemmung wohl der Entstehung einer Seifenlösung zuzuschreiben) soviel schwächer hemmend wirkt, als der Zusatz eines Überschusses von 0,1-n-Lauge, wäre daraus zu erklären, daß im letzteren Falle, auch bei geringem Überschuß, doch eine viel größere Quantität OH-Ionen anwesend ist.

Auch ein Überschuß von Säure scheint hemmend auf die Lipolyse zu wirken:

27. IV. 10. Hund 3. 2 ccm Saft (erhalten auf Eingeben von angesäuerter Galle in die Fistel) + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 4,9 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

2 ccm desselben Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + 2 ccm 0,1-n-Buttersäure + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 2,4 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird (im ganzen waren zur Neutralisation der Mischung 4,4 ccm der Lauge nötig).

Wir haben also gesehen, daß Galle allein und Galle + Ölsäure einen ungefähr gleich stark lipolytischen Saft hervorrufen; daß aber auf Galle + Ölsäure mehr Saft abgesondert wird, als auf Galle allein. Es fragt sich nun, inwiefern die

Ölsäure spezifisch wirkt, und ob nicht vielleicht andere Säuren ebenso wirken. Bei Prüfung zeigte sich, daß andere Säuren, wie Essigsäure oder Salzsäure, zu der Galle hinzugefügt, eine ebenso große Quantität eines (ziemlich) stark lipolytischen Saftes hervorrufen:

23. IV. 10. Hund 2. In die orale Öffnung der Fistel 4,5 ccm Galle gebracht, zu welcher ein Zehntel ihres Volumens $\frac{1}{10}$ -n-Essigsäure hinzugefügt worden war. In 30 Minuten 18 ccm Saft aufgefangen.

2 ccm dieses Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in \pm 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 2,9 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

Auch die Lipolyse dieses Saftes wird gefördert durch Zusatz von Galle in vitro:

2 ccm des Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + 2 ccm Galle + Thymol geben in \pm 18 Stunden soviel Säure, daß diese neutralisiert wird durch 2,9 ccm 0,1063-n-Lauge.

23. V. 10. Hund 3. In die Fistel gegeben 6 ccm einer Galle, zu welcher $\frac{1}{10}$ ihres Volumens $\frac{1}{10}$ -n-HCl hinzugefügt worden war. Hierauf secerniert 15 ccm Saft.

2 ccm dieses Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in \pm 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 4,8 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

Die Galle enthält bekanntlich eine Mischung von sehr vielen Bestandteilen. Es wäre nun interessant, zu wissen, ob vielleicht einem bestimmten Bestandteil die Eigentümlichkeit, einen stark lipolytischen Saft hervorzurufen, zukommt.

Die am meisten eigentümlichen Bestandteile sind bekanntlich die gallensauren Salze, und daß diese eine Rolle spielen, wird schon dadurch wahrscheinlich, daß angesäuerte Galle anders wirkt als neutrale Galle; und Salze sind ja die Bestandteile, die am leichtesten durch Säure verändert werden. Wir haben deshalb statt angesäuertes Galle auch Taurocholsäure und ebenso den gemeinschaftlichen Bestandteil der Tauro- und -glykocholsäure: die Cholsäure versucht:

21. V. 10. Hund 3. In die Fistel gegeben 6 ccm einer Emulsion von Taurocholsäure in Wasser (erhalten durch 25 ccm 2%ige Lösung von Taurocholas Natrius, welche mit 5 ccm $\frac{1}{10}$ -n-Essigsäure versetzt war). Hierauf secerniert 20 ccm Saft in 20 Minuten.

2 ccm dieses Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in 4 Stunden soviel Säure, daß diese durch 1,4 ccm 0,1063-n-Lauge

neutralisiert wird; in + 40 Stunden soviel Säure, daß diese durch 4,25 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

Auch dieser Saft wird in seiner lipolytischen Wirkung durch Zusatz von Galle in vitro verstärkt:

2 ccm desselben Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + 2 ccm Galle + Thymol geben in 4 (bezw. 40) Stunden soviel Säure, daß diese durch 3,7 (bezw. 9,35) ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

21. VI. 10. Hund 3. In die Fistel 4 ccm einer Emulsion von Cholsäure gegeben, erhalten durch Auflösen von 1 g Cholsäure in + 1 ccm Alkohol und Ausgießen der kochenden Lösung unter Schütteln in 25 ccm H₂O. In 30 Minuten 22 ccm Saft aufgefangen.

2 ccm dieses Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Säure, daß diese durch 3,9 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

16. VIII. 10. Hund 3. In die Fistel gegeben 6 ccm einer Lösung, erhalten durch Auflösen von 1 g Cholsäure in soviel Lauge (20 ccm), daß die Lösung gerade neutral reagiert; und nachträglichen Zusatz von 2 ccm 0,1-n-HCl. In 30 Minuten aufgefangen 20 ccm Saft.

2 ccm dieses Saftes + 2 ccm neutrales Olivenöl + Thymol geben in + 18 Stunden soviel Ölsäure, daß diese durch 4,7 ccm 0,1063-n-Lauge neutralisiert wird.

In der Tat sehen wir somit, daß die Wirkung der Taurocholsäure und auch der Cholsäure derjenigen der angesäuerten Galle nahezu gleich ist.

Zusammenfassung.

Es wurden bestätigt die Angaben von Lombroso (1903) und Boldyreff (1904): daß aus einer Thiry-Vellaschen Fistel spontan sehr wenig eines ziemlich schwach lipolytisch wirkenden Darmsaft secerniert wird; daß durch Anwendung von Reizmitteln im allgemeinen wohl eine größere Menge, jedoch eines viel weniger lipolytischen Saftes erhalten wird; daß aber, wie dies Lombroso (1908) gezeigt hat, eine Mischung von Galle + Ölsäure unter den Reizmitteln eine sehr besondere Stellung einnimmt, weil nach Einführung einiger Kubikzentimeter dieser Mischung in die Darmschlinge eine reichliche Quantität eines stark lipolytischen Saftes abgesondert wird.

Weiter wurde gefunden, daß in dieser Mischung nicht die Ölsäure der wirksame Bestandteil ist: Ölsäure allein, oder Ölsäure in emulgiertem Zustande ruft keinen lipolytischen Saft hervor.

Auf Galle allein wird eine nicht so große Menge wie auf Galle + Ölsäure, aber eines ebenso starken lipolytischen Saftes abgesondert.

Galle, in vitro dem spontan secernierten oder dem auf Reizmittel (auch auf Galle oder auf Galle + Ölsäure) erhaltenen Saft hinzugefügt, verstärkt immer die lipolytische Wirkung desselben.

Auf Seifenlösung wird ein sehr schwach lipolytisches Sekret abgesondert; in vitro wird durch Seifenlösung die Lipolyse des Darmsaftes stark gehemmt; schon ein sehr geringer Überschuß von Lauge hebt die lipolytische Wirkung des Saftes völlig auf.

Statt der Mischung von Galle + Ölsäure können wir eine durch starke, wasserlösliche Säuren angesäuerte Galle in die Fistel einführen, um eine große Quantität eines stark lipolytischen Saftes zu erhalten.

Ebenso wie die angesäuerte Galle wirkt eine Emulsion von Taurocholsäure oder von Cholsäure in Wasser. Sehr wahrscheinlich ist deshalb die eigentümliche Reizung der Darmmucosa durch die Mischung von Galle + Ölsäure der Anwesenheit von Gallensäuren zuzuschreiben. Es wäre nun interessant, zu wissen, welcher Gruppe in dem Cholsäuremolekül diese Wirkung gehört; ich bin deshalb beschäftigt mit Versuchen über die chemische Konstitution der Cholsäure.

Durch Untersuchungen Pregls und anderer Autoren ist es wahrscheinlich geworden, daß sich im Molekül dieser Säure hydroaromatische Ringe befinden. Nun haben bekanntlich von Baiyer und Villiger solche Ringe dadurch in aromatische übergeführt, daß sie sie zuerst völlig bromierten und darauf die Br-Atome wegnahmen. Zunächst habe ich nun die Absicht, zu versuchen, ob solch ein Verfahren auch bei Cholsäure anwendbar ist.