

# **Verdauung und Resorption von Nucleinsäure im Magendarmkanal.**

## **I. Mitteilung.**

Von

**E. S. London und Alfred Schittenhelm** (Erlangen).

(Aus dem pathologischen Laboratorium des K. Instituts für experimentelle Medizin zu St. Petersburg.)

(Der Redaktion zugegangen am 24. Oktober 1910.)

Über den Abbau der Nucleinsäure im Magendarmkanal und deren Resorption ist bis jetzt noch sehr wenig Sicheres bekannt.<sup>1)</sup> Auf Grund von Versuchen, in welchen man Magensaft und Pankreassaft auf Nucleinsäure außerhalb des Körpers einwirken ließ, nimmt man an, daß die Nucleinsäure unter deren Einwirkung hauptsächlich nur physikalische, aber keine chemischen Veränderungen eingeht.

Der beste und sicherste Weg, den Abbau zu studieren, ist die Verfolgung der natürlichen Verdauung im Darm. Wir benutzten diesen Weg, indem wir Nucleinsäure an Hunde verfütterten, denen in verschiedenen Höhen des Verdauungstraktus Fisteln angelegt waren. Das so erhaltene Verdauungsprodukt wurde jeweils der Analyse unterworfen.

Es stellte sich dabei zunächst in völliger Übereinstimmung mit den bereits vorliegenden Untersuchungen heraus, daß die Nucleinsäure im Magen weder verändert noch resorbiert wird, daß sie vielmehr den Magen gänzlich unverändert wieder verläßt.

<sup>1)</sup> Literatur s. bei A. Schittenhelm im Oppenheimerschen Handbuch der Biochemie und bei Brugsch und Schittenhelm. Der Nucleinstoffwechsel. Jena 1910.

Im Darm findet dagegen eine chemische Veränderung der Nucleinsäure statt. Um dieselbe sicher zu erweisen, schlugen wir verschiedene Wege ein.

Ein Teil der aus den Darmfisteln erhaltenen Produkte wurde der Dialyse unterworfen und im Dialysat auf freie und gebundene Purinbasen untersucht. Da die reine Thymonucleinsäure nicht dialysiert, beweist das Auftreten von Purinbasen im Dialysat, daß eine Veränderung mit ihr vorgegangen sein muß. In der Tat fanden sich sowohl gebundene, als auch eine kleine Menge freier Purinbasen. Ein kleiner Teil scheint also bis zur Abspaltung freier Basen aufgespalten zu werden, ein größerer aber so verändert zu werden, daß dialysable Spaltprodukte entstehen, welche noch organisch gebundene Purinbasen enthalten.

Die neueren Leveneschen Untersuchungen über die partielle Hydrolyse der Nucleinsäuren legen den Gedanken nahe, daß der Abbau im Magendarmkanal ähnliche Wege geht, und wir haben daher einen zweiten Teil der aus den Fisteln erhaltenen Verdauungsprodukte entsprechend der Leveneschen<sup>1)</sup> Versuchsanordnung mit Bleiacetat fraktioniert. Auch hierbei stellte sich mit Sicherheit eine Veränderung der Nucleinsäure heraus. Während nämlich die unverdaute Thymonucleinsäure, wie sie auch noch aus dem Pylorus kommt, sich quantitativ mit 25%iger Bleiacetatlösung als nucleinsaures Bleisalz fällen läßt, entgeht dieser Fällung ein um so größerer Teil des aus der verfütterten Nucleinsäure entstehenden Verdauungsproduktes, je näher die Fistel dem unteren Ileum zu angelegt ist. Dagegen läßt sich aus dem Filtrat der Bleifällung durch Versetzen mit Ammoniak ein unlösliches Bleisalz erhalten, welches Purinbasen in reichlicher Menge organisch gebunden enthält. Nach Levenes Untersuchungen dürfte es sich hier um ein Nucleosid (z. B. Guanodin) oder ein Mononucleotid (Guanylsäure) oder ein Gemisch beider handeln. Die Identifizierung steht noch aus. Wir werden darauf später

<sup>1)</sup> Levene, P. A. und W. N. Jakobs, Über das Vorkommen des freien Guanodins in der Pankreasdrüse: Biochemische Zeitschrift, 1910, Bd. XXVIII, S. 127.

zurückkommen. Jedenfalls ist nun auch auf diesem Wege eine weitere Aufspaltung der Nucleinsäure im Darm erwiesen.

Die Resorption der Nucleinsäure resp. ihrer Spaltprodukte geht vornehmlich in den unteren Darmabschnitten, dem unteren Jejunum und dem Ileum, vor sich, wie ja hier auch die Aufspaltung, welche der Resorption vorhergeht, geschieht. Im Duodenum und im oberen Jejunum ist die Aufspaltung und Resorption gering und man findet daher hier noch relativ große Mengen unveränderter Nucleinsäure. Indem die Menge der freien Purinbasen, welche sich in den Verdauungsprodukten finden, eine sehr geringe ist, hat es den Anschein, als ob zur Resorption eine völlige Aufspaltung nicht notwendig wäre.

Die angestellten Kontrollversuche mit purinfreier Nahrung endlich haben wiederum ergeben, daß der Körper in den Verdauungssäften keine Purinbasen abgibt. Die immer wieder auftauchenden Behauptungen von einem erheblichen Purinverlust des Körpers durch Abgabe der Verdauungssäfte sind daher sicher unrichtig.

### Experimenteller Teil.

#### Versuchsreihe I (Hefenucleinsäure).

1. Duodenalhund. Nahrung: 400 g Milch, 50 g Weißbrot und 20 g hefenucleinsaures Natrium. Dauer des Versuches: 6 Stunden. Gewicht des aufgenommenen Breies: 630 g.

Gesamtrockensubstanz:	105	g
Gesamt-N	:	6,38 »
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	:	5,36 »
Purinbasen-N	:	1,62 »

76 g wurden in 400 ccm Wasser unter Zusatz von soviel Normalnatronlauge, daß die Reaktion eben alkalisch war, in der Schüttelmaschine gelöst. Die Lösung wurde filtriert und zum Filtrat 100 ccm einer 25%igen Bleiacetatlösung zugesetzt. Dabei fiel das Bleisalz der Hefenucleinsäure in dicken Flocken aus. Nach 12stündigem Stehen wurde abfiltriert, das Filtrat

durch  $H_2S$  entbleit und 100 ccm mit 5 ccm konzentrierter  $H_2SO_4$  3 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Die Flüssigkeit wurde mit Natronlauge neutralisiert, mit Essigsäure angesäuert und nun eine Basenfällung mit der Kupfersulfat-Bisulfitbestimmung angeschlossen. Stickstoffmenge der Basen: 0,16 g.

Weitere 100 ccm wurden sofort mit der Fällung durch ammoniakalische Silberlösung auf freie Purinbasen verarbeitet. Der N-Gehalt dieser Fällung entsprach 1,5 ccm  $n/10-H_2SO_4$ , was einer Gesamtmenge freier Purinbasen mit 0,015 g N ergibt.

2. Jejunumhund (Fistel 1 m weit vom Pylorus). Nahrung: 500 ccm Milch, 50 g Weißbrot und 22 g hefenucleinsaures Natrium. Dauer des Versuches: 8 Stunden. Gewicht des aufgesammelten Breies: 470 g.

Gesamtrockensubstanz:	61	g
Gesamt-N	:	3,43 »
$P_2O_5$	:	4,05 »
Purinbasen-N	:	1,41 »

3. Ileumhund (Fistel 1 m vom Coecum). Nahrung: 600 ccm Milch, 50 g Weißbrot, 20 g hefenucleinsaures Natrium. Dauer des Versuches: 12 Stunden.

Gesamtrockensubstanz:	29	g
Gesamt-N	:	2,57 »
$P_2O_5$	:	2,26 »
Purinbasen-N	:	1,02 »

24 g wurden mit 300 ccm  $H_2O$  genau so gelöst, mit Blei gefällt und wieder entbleit wie sub 1.

100 ccm wurden zur Bestimmung des Gesamtpuringehaltes durch Kochen mit  $H_2SO_4$  aufgeschlossen. Gesamtstickstoff der Purinbasen: 0,32 g.

100 ccm wurden zur Bestimmung der freien Purinbasen der Silberfällung unterworfen. Gesamtgehalt an freien Purinbasen: 0,054 g N.

4. Ileocoecahund (Fistel 2—3 cm vom Coecum). Nahrung: 800 ccm Milch, 60 g Weißbrot und 20 g hefenucleinsaures Natrium. Dauer der Ausscheidung: 14 Stunden. Gewicht des aufgesammelten Breies: 220 g.

Gesamtrockensubstanz:	35	g
Gesamt-N	: 2,22	»
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	: 2,29	»
Purinbasen-N	: 0,782	»

10 g wurden in 150 ccm H<sub>2</sub>O mit etwas Natronlauge durch 1stündiges Schütteln gelöst, filtriert und 3 Tage lang dialysiert. Das Dialysat wurde im Vakuum bei 40° C. eingengt auf 300 ccm. Davon 100 ccm mit 5 ccm H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Dann Purinbestimmung mit der Kupferfällung, die zweimal wiederholt wird. Gesamtpurin-N: 0,496 g.

100 ccm zur Bestimmung der freien Basen sofort gefällt. Gesamtpurin-N: 0,08 g.

20 g in 300 ccm H<sub>2</sub>O gelöst und wie oben mit Bleiacetat gefällt usw. Vom entbleiten Filtrat 100 ccm mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> abgeschlossen. Gesamtpurin-N: 0,425 g.

100 ccm für Bestimmung der freien Basen sofort mit Silber gefällt. Gesamtpurin-N: 0,068 g.

### Versuchsreihe II (Thymonucleinsäure).

1. Pylorushund (Fistel hart hinter dem Pylorus). Nahrung: 25 g Weißbrot + 8 g thymonucleinsaures Natrium. Dauer des Versuches: 3<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Stunden.

Gesamtrockensubstanz:	42	g
Gesamt-N	: 1,89	»
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	: 2,40	»
Purinbasen-N	: 0,58	»

10 g in 300 ccm H<sub>2</sub>O durch 2stündiges Schütteln in der Schüttelmaschine gelöst und 5 Tage lang unter täglichem Wasserwechsel dialysiert. Das Dialysat wurde im Vakuum bei 40° C. auf 200 ccm eingengt. Es enthielt nur Spuren Purinbasen.

26,5 g wurden in 400 ccm H<sub>2</sub>O unter Zusatz von soviel Normalnatronlauge, daß die Reaktion eben alkalisch war, durch 2stündiges Schütteln in der Schüttelmaschine gelöst. Die Lösung wurde filtriert und zum Filtrat 100 ccm einer 25%igen Lösung von Bleiacetat zugesetzt. Dabei fiel das Bleisalz der Thymonucleinsäure in dicken Flocken aus. Nach 12stündigem Stehen

wurde abfiltriert. Das Filtrat wurde durch  $H_2S$  entbleit und 100 ccm mit 5 ccm  $H_2SO_4$  3 Stunden am Rückflußkühler gekocht; es ließen sich mit der Kupfersulfat-Bisulfitfällung keine Purinbasen nachweisen. Ebenso wenig ließen sich Purinbasen durch die Fällung mit ammoniakalischer Silberlösung nachweisen.

Die Thymusnucleinsäure war demnach völlig unzersetzt im ursprünglichen Zustande noch erhalten. Sie konnte auch aus dem Inhalt des Dialyseschlauches in reinem Zustand als weißes Pulver, das gut gelatinierte, wieder gewonnen werden.

2. Jejunumhund (Fistel 1 m vom Pylorus). Nahrung: 25 g Weißbrot + 8 g thymonucleinsaures Natrium. Dauer des Versuches: 4 Stunden.

Gesamtrockensubstanz:	33 g
Gesamt-N	: 1,06 »
$P_2O_5$	: 1,59 »
Purinbasen-N	: 0,42 »

10 g wurden in 300 ccm  $H_2O$ , genau wie unter 1, gelöst und dialysiert. Vom Dialysat, das auf 500 ccm eingengt war, wurden 250 ccm mit der Fällung durch ammoniakalische Silberlösung auf freie Purinbasen geprüft. Der Versuch fiel positiv aus. Die Silberlösung wurde quantitativ weiterverarbeitet. Gesamtstickstoffmenge freier Purinbasen: 0,102 g.

3. Ileumhund (Fistel  $\frac{1}{2}$  m vom Coecum). Nahrung: 50 g Weißbrot + 8 g thymonucleinsaures Natrium.

Gesamtrockensubstanz:	12,2 g
Gesamt-N	: 0,984 »
$P_2O_5$	: 0,482 »
Purinbasen-N	: 0,256 »

9 g wie oben gelöst und dialysiert. Im Dialysat freie Purinbasen, deren Bestimmung mit der Silbermethode 0,01 g Purinstickstoff für die Gesamtmenge ergibt.

4. Derselbe Hund (zweiter Versuch).

Gesamtrockensubstanz:	10,8 g
Gesamt-N	: 0,771 »
$P_2O_5$	: 0,389 »
Purinbasen-N	: 0,165 »

7 g wie oben gelöst und dialysiert ergeben einen Gehalt an freien Purinbasen, der in der Gesamtmenge 0,02 g Purinstickstoff entspricht.

### Versuchsreihe III (Thymonucleinsäure).

1. Jejunumhund (Fistel 1 m vom Pylorus). Nahrung: 30 g Weißbrot + 8 g thymonucleinsaures Natrium. Dauer des Versuches: 5 Stunden.

Gesamtrockenmenge:	29,2	g
Gesamt-N	: 1,49	»
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	: 2,065	»
Purinbasen-N	: 0,503	»

20 g wie gewöhnlich gelöst und der Dialyse unterworfen. Im eingeeengten Dialysat eine kleine Menge freier Purinbasen.

5 g wie gewöhnlich gelöst und der Bleiacetatfällung unterworfen. Die eine Hälfte des entbleiten Filtrats mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> aufgeschlossen. Purinbasengehalt der gesamten Menge als N: 0,074 g. Die andere Hälfte direkt mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt gibt nur ganz minimale Trübung.

2. Derselbe Hund (zweiter Versuch). Nahrung: 25 g Weißbrot + 8 g thymonucleinsaures Natrium.

Gesamtrockensubstanz:	17,5	g
Gesamt-N	: 1,57	»
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	: 1,06	»
Purinbasen-N	: 0,398	»

10 g gelöst und dialysiert. Spuren freier Purinbasen. 4 gelöst und mit Bleiacetat gefällt. Eine Hälfte des entbleiten Filtrats mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> aufgeschlossen. Purinbasen-N: 0,061 g.

Zweite Hälfte direkt mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt. Nur ganz geringe Spuren von Purinbasen.

### Versuchsreihe IV

(Thymusnucleinsäure mit Wasser angerührt ohne jeden Nahrungszusatz).

1. Jejunumhund (Fistel 1<sup>1</sup>/<sub>4</sub> m vom Pylorus). Verfüttert: ca. 25 g thymonucleinsaures Natrium.



Gesamtrockensubstanz:	31	g
Gesamt-N	: 3,9	»
Purinbasen-N	: 1,64	»

3 g wurden in 200 ccm  $H_2O$  gelöst, mit 30 ccm 25%iger Bleiacetatlösung gefällt. Vom Filtrat wurden 2 verschiedene Versuche angestellt:

50 ccm wurden mit  $H_2S$  entbleit, filtriert, mit 50 ccm Wasser nachgewaschen und 4 ccm  $H_2SO_4$  zugesetzt. Nun wurde 3 Stunden am Rückflußkühler gekocht, mit Natronlauge neutralisiert, mit Kupfersulfat-Bleisulfatlösung die Purinbasen gefällt. Der erhaltene Purinstickstoff dieses und der folgenden Versuche wurde stets auf die Gesamtmenge des Ausgangsmaterials berechnet.

Gesamtpurinstickstoffgehalt: 0,12 g.

140 ccm wurden mit  $NH_3$  solange versetzt, als noch Fällung eintrat. Nach kurzem Stehen wurde filtriert, Filter + Niederschlag gut ausgewaschen, in 200 ccm Wasser suspendiert, mit 8 ccm  $H_2SO_4$  versetzt und 3 Stunden gekocht. Darnach filtriert und Filtrat wie oben der Purinbasenbestimmung unterworfen.

Gesamtpurinstickstoffgehalt: 0,53 g.

2. Ileumhund (Fistel 150 cm vom Coecum). Verfüttert: ca. 25 g thymonucleinsaures Natrium. Dauer des Versuches: 9 Stunden.

Gesamtrockensubstanz:	17	g
Gesamt-N	: 2,04	»
Purinbasen-N	: 0,765	»

Wie 1. weiter verarbeitet.

Basenstickstoffgehalt aus dem Filtrat der Bleifällung: 0,36 g.

N der Basen der mit  $NH_3$  in dem Filtrat der Bleifällung erhaltenen Bleisalze: 0,40 g.

3. Ileumhund (Fistel 100 cm vom Coecum). Verfüttert wie in 1 und 2.

Gesamtrockensubstanz:	11	g
Gesamt-N	: 1,1	»
Purinbasen-N	: 0,51	»



Wie 1 verarbeitet.

N-Basengehalt aus dem Filtrat der Bleifällung: 0,17 g.  
» der mit  $\text{NH}_3$  in dem Filtrat der Bleifällung erhaltenen Bleisalze: 0,18 g.

### Versuchsreihe V

(Kontrollversuche: Verfütterung von Milch und Brot).

#### 1. Duodenalchymus.

Gesamtrockensubstanz: 28 g  
Gesamt-N : 1,93 »  
 $\text{P}_2\text{O}_5$  : 0,79 »  
Purinbasen-N : geringe Spuren.

#### 2. Jejunumchymus.

Gesamtrockensubstanz: 15,2 g  
Gesamt-N : 1,04 »  
 $\text{P}_2\text{O}_5$  : 0,61 »  
Purinbasen-N : 0

#### 3. Ileumchymus (oberes Ileum).

Gesamtrockensubstanz: 11,4 g  
Gesamt-N : 0,421 »  
 $\text{P}_2\text{O}_5$  : 0,374 »  
Purinbasen-N : geringe Spuren.

#### 4. Ileumchymus (unteres Ileum).

Gesamtrockensubstanz: 6,8 g  
Gesamt-N : 0,33 »  
 $\text{P}_2\text{O}_5$  : 0,39 »  
Purinbasen-N : 0,012 »