

# Zur Kenntnis des Abbaus der Eiweißkörper im Magendarmkanal verschiedener Tierarten.

Von

**Emil Abderhalden, Wilhelm Klingemann und Theodor Pappenhusen.**

(Aus dem physiologischen Institut der tierärztlichen Hochschule, Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 15. März 1911.)

Über den Abbau der Eiweißkörper durch die Fermente des Magendarmkanals sind wir am besten unterrichtet beim Hunde. Untersuchungen mit dem Magensaft vom Hunde ergaben, daß die Spaltung der Proteine nicht bis zu Aminosäuren führt. Das gleiche Resultat ergab die Untersuchung des Mageninhalts frisch getöteter Tiere und ferner des aus einer Magenfistel entnommenen Chymus.<sup>1)</sup> Pankreassaft dagegen macht frühzeitig Aminosäuren frei. Der Abbau ist ein sehr weitgehender, jedoch kein vollständiger. Es bleiben Komplexe übrig, welche noch mehrere Aminosäuren gebunden enthalten. Diese zerlegt dann das Erepsin. Über die Pankreassaft- und Darmsaftwirkung sind nach der eben erwähnten Richtung gleichfalls die meisten Versuche am Hunde ausgeführt worden. Auch hier wurde die Wirkung der genannten Säfte teils außerhalb des Organismus im Reagenzglasversuch geprüft, teils wurde der Inhalt verschiedener Darmpartien auf Peptone und Aminosäuren untersucht.

Der Befund von Aminosäuren im Darminhalt sagt an und für sich über die Tiefe des Abbaus der Proteine nichts aus. Exakte Versuche hatten ergeben, daß einzelne Aminosäuren, wie z. B. Tyrosin und Tryptophan, sehr frühzeitig vollständig abgespalten werden, während gleichzeitig noch der

<sup>1)</sup> Vgl. hierzu Emil Abderhalden, Lehrbuch der physiologischen Chemie, 2. Aufl., S. 288, 1908.

größte Teil des Eiweißmoleküls in Form kompliziert gebauter Peptone vorhanden ist.

Uns interessierte nun die Frage, ob die Magen- und die Darmverdauung auch bei anderen Tieren ein analoges Verhalten zeigt, wie beim Hunde. Vor allen Dingen interessierten uns Pflanzenfresser. Leider waren wir nicht in der Lage, mit den entsprechenden Sekreten selbst zu arbeiten, weil uns keine Fisteltiere zur Verfügung standen. Wir mußten uns damit begnügen, den Magen- und Darminhalt einer möglichst großen Zahl verschiedener Tierarten auf Aminosäuren zu untersuchen. Wir haben bis jetzt die Versuche auf folgende Tierarten ausgedehnt: Hund, Rind, Pferd, Schaf, Schwein, Gans und Huhn.

Wir wollen die erhaltenen Resultate gleich vorwegnehmen. In Bestätigung der früher ausgeführten Untersuchungen konnten wir beim Hunde im Mageninhalt entweder gar keine Aminosäuren oder nur Spuren davon nachweisen. Im Darminhalt dagegen trafen wir immer auf Aminosäuren. Das gleiche Resultat erhielten wir bei der Untersuchung des Darminhaltes all der oben erwähnten Tierarten. Die Mengen, in denen die Aminosäuren auftraten, waren je nach der Dauer der Verdauung sehr verschiedene. Wir haben uns nicht nur mit dem Nachweis der Aminosäuren begnügt, sondern die einzelnen Arten isoliert und genau identifiziert. Da die in den einzelnen Fällen isolierten Aminosäurengemische meist an Menge gering waren, so vereinigten wir alle gewonnenen Aminosäuren und trennten dann — nach vorheriger Abscheidung des Tyrosins und Cystins durch Krystallisation und Abtrennung der Glutaminsäure als salzsaures Salz — die übrigen Aminosäuren mit Hilfe der Estermethode. Erwähnt sei noch, daß wir versucht haben, vor der Veresterung Prolin zu isolieren. Alle Versuche schlugen fehl. Es gelang nicht, Prolin in reinem Zustand zu gewinnen. Es ließ sich dagegen nach erfolgter Veresterung mit Leichtigkeit nachweisen. Von Aminosäuren haben wir isoliert: Glykokoll, Alanin, Leucin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Phenylalanin, Tyrosin und Cystin.

Während die Untersuchung des Darminhaltes einheitliche Resultate ergab, zeigte der Mageninhalt insofern Unterschiede, als beim Schwein und bei den Wiederkäuern — untersucht wurde hier der Inhalt des Labmagens — meistens Aminosäuren in allerdings geringer Menge nachweisbar waren. Im Mageninhalt des Schweines fanden wir solche fast regelmäßig. Wir glauben nicht, daß ihre Bildung auf die Wirkung des Magensaftes zu beziehen ist. Sie dürften vielmehr in der Nahrung bereits vorgebildet gewesen sein. Bei den Wiederkäuern liegt gleichfalls die Vermutung nahe, daß in den Vormägen aus dem Eiweiß Aminosäuren durch die Fermente der Nahrung selbst abgespalten werden. Diese Vermutung wurde durch die direkte Untersuchung des Panseninhalts bestätigt. Wiederholt konnten wir Aminosäuren in geringen Mengen im Panseninhalt nachweisen.

Die Untersuchungen des Magen- und Darminhaltes auf Aminosäuren macht nach 2 Richtungen hin große Schwierigkeiten. Einmal ist es nicht leicht, mit den uns zur Verfügung stehenden Methoden kleine Aminosäuremengen nachzuweisen. Auf indirekte Methoden wollten wir uns nicht einlassen. Wir legten Wert darauf, die Aminosäuren als solche zu isolieren, um jeder Täuschung zu entgehen. Die zweite Schwierigkeit ergibt sich aus der Möglichkeit, daß Aminosäuren aus Eiweiß und Peptonen während der Verarbeitung sekundär abgespalten werden könnten. An diese Möglichkeit muß unter allen Umständen gedacht werden. Wir glauben diese beiden Einwände, die etwa gegen die erhaltenen Resultate erhoben werden können, durch Kontrollversuche entkräftet zu haben. Einmal haben wir wiederholt den Mageninhalt einer großen Anzahl von Tieren (z. B. Mageninhalt von 12 mit großen Mengen Fleisch gefütterten Hunden) mit negativem Erfolg auf Aminosäuren untersucht. Hätten sich in den einzelnen Fällen sehr geringe Mengen von Aminosäuren vorgefunden, dann hätten wir sie bei der Vereinigung des Inhaltes vieler Mägen unzweifelhaft finden müssen. Ferner müßte man erwarten, daß bei verschieden langer Dauer der Verdauung im Magen etwa entstehende Aminosäuren sich anhäufen würden, besonders auch deshalb, weil solche

von der Magenschleimhaut jedenfalls nicht leicht resorbiert werden.<sup>1)</sup>

Was die Möglichkeit einer sekundären Abspaltung von Aminosäuren anbetrifft, so kommen folgende Fehlerquellen bei der Verwendung der von uns angewandten Methode in Betracht. Wir gingen im allgemeinen so vor, daß wir den sofort nach dem Tode des Tieres entnommenen Darmabschnitt öffneten und den gesamten Inhalt in ein Gefäß entleerten. Wir gaben etwa die zehnfache Menge Wasser hinzu — den Mageninhalt neutralisierten wir mit Natriumcarbonat —. Nun kochten wir unter fortwährendem Rühren auf und filtrierten durch Koliertuch. Im Rückstand und im Filtrat stellten wir den Stickstoffgehalt fest, nachdem der Rückstand noch gründlich mit heißem Wasser ausgewaschen worden war. Verarbeitet auf Aminosäuren wurde nur das Filtrat. Es wurde bei einer 35–40° nicht übersteigenden Temperatur des Wasserbades unter stark vermindertem Druck zur Trockene verdampft. Um möglichst alles Wasser zu entfernen, verdampften wir wiederholt mit absolutem Alkohol. Dann veresterten wir den Rückstand. Hierbei war nun die Möglichkeit einer Abspaltung von Aminosäuren gegeben. Bei der Veresterung wird Wasser abgespalten und es kann dann durch die vorhandene Salzsäure Hydrolyse eintreten, besonders dann, wenn man bei der Veresterung Erhitzung eintreten läßt. Wir haben alle Vorsichtsmaßregeln getroffen, um einer sekundären Hydrolyse vorzubeugen. Einmal verwendeten wir bei der Veresterung große Mengen absoluten Alkohols, meist die zehnfache Menge. Ferner wurde die gasförmige Salzsäure besonders sorgfältig getrocknet. Die während der Veresterung eintretende Erwärmung verhinderten wir durch Abkühlung mit Eiswasser. Durch diese Maßnahme wird die Veresterung erschwert. Wir haben deshalb, um doch eine möglichst vollständige Veresterung zu erreichen, den ganzen Prozeß oft wiederholt. Durch Kontrollversuche mit Aminosäuren überzeugten wir uns, daß unter den gege-

<sup>1)</sup> Vgl. hierzu Emil Abderhalden, E. S. London und O. Prym, Über die Resorptionsverhältnisse von in den Magendarmkanal eingeführten Monoaminosäuren. Diese Zeitschr., Bd. LIII, S. 326, 1907.

benen Bedingungen die Veresterung eine gute ist. Daß unter den von uns gewählten Bedingungen eine sekundäre Abspaltung von Aminosäuren nicht eintritt, beweisen die zahlreichen Untersuchungen über den Gehalt des Mageninhaltes an Aminosäuren. Man könnte noch einwenden, daß die im Darminhalt vorhandenen Abbaustufen besonders empfindlich und leicht aufspaltbar seien. Dieser Einwand wird dadurch widerlegt, daß wir fast alle der oben angeführten Aminosäuren auch durch direkte Krystallisation ohne Anwendung der Estermethode nachweisen konnten. Bei diesen Versuchen hatten wir den Inhalt des Darmes vieler Tiere (10) vereinigt und nach erfolgter Koagulation das Filtrat mit Phosphorwolframsäure gefällt. Im Filtrat der Fällung entfernten wir den Überschuß an Phosphorwolframsäure mit Baryt und nach erfolgter Filtration den überschüssigen Baryt mit Schwefelsäure. Das Filtrat vom Baryumsulfat wurde nun der fraktionierten Krystallisation unterworfen. Tyrosin konnte mit Leichtigkeit in reinem Zustand abgetrennt werden. Das Rohleucin reinigten wir über das Kupfersalz. Glykokoll schieden wir in einer besonderen Probe nach starkem Einengen, und nachdem die schwerer löslichen Aminosäuren entfernt waren, als Pikrat ab. Die Glutaminsäure wurde gleichfalls aus einer besonderen Portion als salzsaures Salz isoliert. Es war nur unter großen Verlusten zu reinigen. Wahrscheinlich war salzsaures Phenylalanin beigemischt. Wir konnten jedoch dieses nicht in vollständig reinem Zustand abtrennen. Aus der Mutterlauge vom Glykokollpikrat ließ sich nach Entfernen der Pikrinsäure durch Ausäthern der mit Schwefelsäure angesäuerten Lösung ziemlich reines Alanin abtrennen. Asparaginsäure konnten wir nicht in reinem Zustand gewinnen. Dieser Befund von Aminosäuren ohne Anwendung der Estermethode beweist, daß diese primär vorhanden sind. Dadurch werden gleichzeitig früher schon erhobene Befunde bestätigt. Bemerkt sei, daß wir ganz besondere Mühe auf die Gewinnung von Prolin verwendet haben. Wir benützten die Alkohollöslichkeit des Prolins zur Abtrennung von den übrigen Aminosäuren. Wir machten jedoch auch hier wieder die alte Erfahrung, daß beim Auskochen eines unreinen Gemisches von

Aminosäuren die Alkoholunlöslichkeit der meisten Aminosäuren nicht zu Recht besteht. Es ging trotz sorgfältiger Entfernung der letzten Spuren von Wasser ein ganz erheblicher Teil des eingedampften Aminosäuregemisches in Lösung. Auch der Versuch, durch Darstellung des Kupfersalzes eine Trennung herbeizuführen, gab keine befriedigenden Resultate. Sobald wir die Estermethode anwandten, konnten wir Prolin mit Leichtigkeit in garnicht unerheblichen Mengen (25 g Aminosäuregemisch — 1,2 g Prolin) darstellen.

Nach unseren reichen Erfahrungen auf diesem Gebiete müssen wir vor einer kritiklosen Anwendung der Estermethode zum Nachweis von Aminosäuren in Verdauungsgemischen warnen. Werden nicht alle erforderlichen Vorsichtsmaßregeln angewendet, dann kann leicht, speziell aus Peptonen, eine Abspaltung von Aminosäuren erfolgen. Kocht man z. B. Seidenfibroin mit alkoholischer Salzsäure (absoluter Alkohol, in den trockene, gasförmige Salzsäure eingeleitet worden ist), dann läßt sich leicht freies Glykokoll nachweisen. Wir verweisen nach dieser Richtung auch auf die Erfahrungen von Pribram.<sup>1)</sup>

Nachdem wir bei einer großen Anzahl verschiedener Tiere den Magen- und Darminhalt in der oben erwähnten Weise untersucht hatten, haben wir die Versuche, um ein möglichst großes Material zu gewinnen, in folgender Weise abgekürzt: Wir bestimmten im Magen- resp. Darminhalt zunächst den Stickstoffgehalt, dann kochten wir das ganze Gemenge auf und filtrierten vom Ausgeschiedenen ab. Nun wurde der Stickstoffgehalt des Filterrückstandes und des Filtrates bestimmt, das Filtrat dann eingeeengt und der Rückstand unter den oben erwähnten Bedingungen verestert. Die Ester setzten wir mit Natronlauge und Kaliumcarbonat in Freiheit. Die Ätherauszüge wurde vereinigt, genau gemessen und der Stickstoffgehalt festgestellt. Dann wurde die ätherische Lösung mit verdünnter Salzsäure energisch durchgeschüttelt, und nach mindestens 12stündigem Stehen die salzsaure Lösung vom Äther getrennt und eingedampft. Die Erfahrung zeigte, daß vorherige Trock-

<sup>1)</sup> Vgl. auch die Arbeit von Pribram in diesem Band dieser Zeitschrift.

nung des ätherischen Auszuges vorteilhaft ist. Der erhaltene Rückstand, der die salzsauren Aminosäuren enthalten sollte, wurde zunächst in Wasser aufgenommen, die Lösung durch Kochen mit Tierkohle völlig entfärbt und dann die Salzsäure mit Ammoniak gebunden. Nun wurde fraktioniert krystallisiert. Es ließen sich so die schwer löslichen Aminosäuren abtrennen und nach den üblichen Methoden identifizieren. Selbstverständlich war auf diesem Wege eine quantitative Bestimmung der Aminosäuren vollständig ausgeschlossen. Es kam uns nur darauf an, den Nachweis zu erbringen, daß überhaupt Aminosäuren vorhanden waren. Hätten wir uns auf den Stickstoffgehalt des Ätherauszuges, der die Aminosäureester enthalten sollte, verlassen, dann wären, wie unsere Beobachtungen ergeben haben, leicht Täuschungen unterlaufen. Offenbar war in manchen Fällen Ammoniak in den Äther aufgenommen worden. Es scheint uns bei dieser Gelegenheit nicht unangebracht, darauf hinzuweisen, daß auch die einfache Darstellung von Derivaten von Aminosäuren ohne eingehende Untersuchung des Kuppelungsproduktes völlig irreführend sein kann.

Die bei den oben erwähnten, besonders sorgfältig durchgeführten Versuchen gewonnenen Aminosäuren haben wir zum großen Teil analysiert oder doch zum mindesten durch den Schmelzpunkt die Löslichkeit und durch Derivate identifiziert.

#### Glykokoll:

0,1116 g Substanz gaben	0,1303 g CO <sub>2</sub> und	0,0664 g H <sub>2</sub> O
Berechnet für C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub>	Gefunden:	
32,00% C, 6,66% H	31,84% C, 6,61% H.	

#### Alanin:

0,2015 g Substanz gaben	0,2990 g CO <sub>2</sub> und	0,1430 g H <sub>2</sub> O
Berechnet für C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	Gefunden:	
40,45% C, 7,86% H	40,48% C, 7,88% H.	

#### Leucin:

0,1548 g Substanz gaben	0,3112 g CO <sub>2</sub> und	0,1395 g H <sub>2</sub> O
Berechnet für C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	Gefunden:	
54,96% C, 9,92% H	54,83% C, 10,02% H.	

Tabelle 1.

Tierart	Darm- abschnitt	N-Gehalt des Chymus in g	N-Gehalt des Rück- standes in g	N-Gehalt des Filtrates in g	N-Gehalt des Äther- auszuges in g	Isolierte Aminosäuren
Hund	Magen	7,68	6,10	1,48	0,012	0
"	"	5,75	4,15	1,52	0,008	0
"	"	2,45	1,45	0,92	0,007	0
"	"	3,10	2,50	0,58	0,006	0
"	"	6,15	5,00	1,01	0,002	0
"	"	8,45	6,45	1,80	0,015	Spuren (?)
Pferd	"	5,82	3,42	2,21	0,047	Spuren
"	"	2,66	0,86	1,62	0,005	0
"	"	5,01	3,15	1,90	0,010	0
"	"	6,12	3,05	3,01	0,029	Spuren
"	"	4,85	1,80	2,95	0,018	"
"	"	8,12	2,95	5,02	0,010	0
"	"	5,75	2,65	3,00	0,025	Spuren
Hase	"	2,40	0,57	1,61	0,011	0
"	"	3,15	2,05	1,02	0,009	0
Schwein	"	1,13	0,38	0,77	0,024	Spuren
"	"	1,05	0,44	0,54	0,001	0
"	"	1,25	0,25	1,00	0,012	0
"	"	3,85	2,15	1,60	0,022	Spuren
"	"	4,05	2,05	1,95	0,045	Leucin, Tyrosin
"	"	5,18	1,20	3,80	0,045	Tyrosin, Leucin
"	"	4,25	3,22	0,88	0,012	0
"	"	4,00	1,25	2,55	0,055	Leucin, Tyrosin
Rind	Labmagen	1,76	0,59	1,28	0,024	Tyrosin, Leucin
"	"	3,30	0,28	2,80	0,028	Spuren
"	"	8,10	3,28	4,60	0,032	"
"	"	6,25	2,15	4,00	0,002	0
"	"	5,48	2,15	3,05	0,002	0
"	"	8,00	4,28	3,60	0,018	0
"	"	8,58	3,25	5,00	0,045	Spuren
"	"	6,20	4,00	2,15	0,048	Tyrosin, Leucin
"	"	4,05	2,00	2,08	0,075	Spuren
"	"	3,25	2,85	0,41	0,089	Tyrosin, Leucin
Schaf	"	0,77	0,41	0,30	0,004	0
"	"	0,64	0,30	0,28	0,001	0
"	"	0,86	0,35	0,40	0,001	0
"	"	1,54	0,55	0,95	0,001	0
"	"	1,60	0,45	1,12	0,001	0
Gans	Magen (15 Stück)	1,88	0,68	1,15	0,001	0
Huhn	" (20 " )	2,25	1,28	0,95	0,010	0

Tabelle 2.

Tierart	Darmabschnitt	N-Gehalt des Chymus in g	N-Gehalt des Rück- standes in g	N-Gehalt des Filtrates in g	N-Gehalt des Äther- auszuges, in g	Isolierte Amino- säuren
Hund	Jejunum	2,85	0,85	2,02	0,156	Bei jedem einzelnen Versuche konnten Aminosäuren in wägbarer Menge nachgewiesen werden. Tyrosin und Leucin waren immer vorhanden. Die leichter löslichen Aminosäuren ließen sich nur dann sicher identifizieren, wenn genügende Ausbeuten an Aminosäuren zur Verfügung standen.
"	Ileum	1,58	0,44	1,15	0,200	
"	Jejunum	3,50	0,35	3,05	0,258	
"	Jejunum + Ileum	4,10	1,05	2,95	0,098	
"	"	2,00	0,25	1,60	0,095	
"	"	1,52	0,45	1,00	0,085	
Pferd	"	40,60	15,84	24,44	0,506	
"	"	14,39	2,25	11,85	0,446	
"	"	14,78	2,66	11,93	0,449	
"	"	16,30	5,56	10,64	0,583	
"	"	54,25	6,25	48,01	1,254	
"	"	25,45	5,00	20,12	0,554	
"	"	13,12	2,95	10,15	0,657	
"	"	22,45	6,10	16,20	0,891	
"	"	25,18	8,20	16,90	0,451	
Schwein	"	16,22	4,25	12,00	0,521	
"	"	15,15	1,25	13,62	0,555	
"	"	14,22	2,50	11,40	0,415	
"	"	21,55	2,11	19,00	0,912	
"	"	10,12	1,50	8,65	0,098	
"	"	10,22	0,90	9,10	0,402	
Rind	"	27,50	1,25	25,20	0,815	
"	"	13,43	0,35	12,77	0,185	
"	"	16,28	1,25	15,00	0,258	
"	"	28,15	2,18	26,12	0,588	
"	"	29,20	4,58	24,98	0,415	
"	"	35,28	2,68	32,45	0,886	
"	"	29,11	5,42	23,65	0,952	
"	"	26,25	8,22	17,95	0,487	
"	"	30,00	4,32	25,43	0,325	
Schaf	"	5,07	0,34	4,53	0,440	
"	"	7,09	2,33	4,62	0,536	
"	"	5,98	2,02	3,80	0,082	
"	"	4,93	2,45	2,60	0,136	
"	"	4,86	2,75	2,02	0,418	
"	"	6,12	4,25	1,75	0,512	
"	"	4,52	2,44	2,02	0,321	
Gans	Darminhalt von 6 Gänsen	5,59	2,00	3,44	0,251	

Phenylalanin:

0,1570 g Substanz gaben 0,3786 g CO<sub>2</sub> und 0,0938 g H<sub>2</sub>O  
Berechnet für C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub> Gefunden:  
65,45% C, 6,66% H 65,76% C, 6,64% H.

Asparaginsäure:

0,1998 g Substanz gaben 0,2635 g CO<sub>2</sub> und 0,0976 g H<sub>2</sub>O  
Berechnet für C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>4</sub> Gefunden:  
36,09% C, 5,26% H 35,97% C, 5,43% H.

Die Glutaminsäure wurde als salzsaures Salz identifiziert.

Die Tabelle I gibt einen Überblick über die Resultate bei der Untersuchung des Mageninhaltes auf Aminosäuren.

Tabelle 2 gibt einen Einblick in die Ergebnisse der Untersuchung des Darminhaltes auf Aminosäuren.