

Verdauung und Resorption von Nucleinsäure im Magendarmkanal.

III. Mitteilung.

Von

E. S. London, Alfred Schittenhelm und Karl Wiener.

(Aus dem Laboratorium der medizinischen Klinik in Erlangen und dem pathologischen Laboratorium des K. Instituts für experimentelle Medizin zu St. Petersburg.)

In früheren Versuchen¹⁾ wurde von uns ermittelt, daß die Nucleinsäure im Magen keinerlei Veränderung erleidet, daß sie aber im Dünndarm einer Aufspaltung unterliegt, wobei Nucleoside in geringen Mengen nachgewiesen werden konnten.

Es wurde von uns bereits früher angenommen, daß der Pankreassaft keine wesentliche Rolle bei der Verdauung der Nucleinsäure spielt. Die folgenden Versuche sollen eine weitere Aufklärung dieser Verhältnisse bringen.

Wir verfütterten Nucleinsäure der Reihe nach an einen normalen, einen magenlosen, einen pankreassaftlosen (Unterbindung aller Pankreasausführungsgänge) und einen pankreaslosen Hund, die alle eine Darmfistel im unteren Ileum hatten, aus welcher der Darminhalt aufgefangen wurde. Der so erhaltene Chymus wurde einer mehrtägigen Nachverdauung im Brutschrank unterworfen.

Die Verarbeitung geschah mittels fraktionierter Bleiacetatfällung und Bestimmung des Stickstoffs in den einzelnen Fraktionen. Es zeigte sich, daß die Verdauung der Nucleinsäure bei allen vier Hunden keine wesentlichen Differenzen zeigte. Unzersetzte Nucleinsäure konnte nur in ganz geringen Mengen nachgewiesen werden; freie Purinbasen fanden sich in keinem Falle. Die Hauptmenge der Purinbasen befand sich offenbar in nucleosidartiger Bin-

¹⁾ Diese Zeitschrift, 1910, Bd. 70, S. 10, und 1911, Bd. 72, S. 459.

dung. Auch in diesem Versuch konnten wir Guanosin isolieren.

Anschließend an diese Versuche am lebenden Tier bringen wir noch zwei Versuche, in denen die Nucleinsäure mit Pankreas- resp. Darmsaft angesetzt und 4 Wochen im Brutschrank unter Toluolzusatz stehen gelassen war. Die Verarbeitung geschah wie in den andern Versuchen. Es zeigte sich in schöner Übereinstimmung mit den Versuchen am lebenden Tier, daß der Pankreassaft keine wesentliche Veränderung der Nucleinsäure herbeizuführen vermag. Die minimale Aufspaltung ist wohl eine Folge der Wärmehydrolyse. Außerordentlich intensiv wirkte dagegen der Darmsaft.

Unsere Resultate stehen durchaus im Einklang mit den Befunden von Levene und Medigreceanu,¹⁾ welche das Verhalten der Nucleinsäure gegen reine (Pawlowsche) Magen-, Pankreas- und Darmsäfte des Hundes prüften. Sie unterzogen der Prüfung gleichzeitig die durch partielle Hydrolyse aus der Hefenucleinsäure erhaltenen Spaltungsprodukte, die Nucleotide und Nucleoside. Ihre Untersuchungen zeigten mit Bestimmtheit, daß sowohl die Hefe- als auch die Thymonucleinsäure speziell durch den Darmsaft chemisch verändert werden, wobei jedoch unter den angegebenen Bedingungen die Spaltung nicht über das Nucleosidstadium hinausging. Die Purin- und die Pyrimidinbasen waren in allen Versuchen in Verbindung mit dem Zucker geblieben. Auch die reinen Nucleoside (Inosin, Guanosin) wurden von keinem der Säfte angegriffen.

Alle Versuche weisen also darauf hin, daß die Aufspaltung der Nucleinsäure im Darme vornehmlich den Fermenten des Darmsaftes zuzuschreiben ist, und daß sie Halt macht bei den Nucleosiden, welche im Darme keiner weiteren fermentativen Aufspaltung und Umsetzung unterliegen. Es ist klar, daß in den unteren Darmabschnitten die Bakterien ihre bekannte Wirkung auf diese Substanzen entfalten.

Zu erwähnen ist noch, daß es uns in allen Versuchen, am meisten bei dem Reagenzglasversuche mit Darmsaft auffiel,

¹⁾ Journ. of Biolog. Chem., 1911, Bd. 9, S. 375.

daß der Bleifällung ein sehr großer Teil des Stickstoffs entging. Ob die Unvollständigkeit der Bleifällung oder das Vorhandensein von Substanzen, die durch diese Fällung nicht niedergeschlagen werden, die Ursache ausmachen, muß noch weiter verfolgt werden.

Experimenteller Teil.

Einem **normalen** Hund, der 125 cm vor der Ileocökalklappe eine Darmfistel besaß, wurden 30 g Thymonucleinsäure zugeführt und der aus der Fistel ausfließende Darminhalt 8 Stunden lang aufgefangen. Der Chymus, der ein flüssiger Brei mit gelatinösen Stückchen war, wurde 8 Tage lang in den Brutschrank gestellt.

Darnach waren in der Flüssigkeit nur noch geringe Mengen eines gelatinösen, mit Haaren vermengten Bodensatzes vorhanden. Von diesem wurde abfiltriert.

Das Filtrat wurde auf 500 ccm aufgefüllt und der Stickstoffgehalt nach Kjeldahl bestimmt. 5 ccm verbrauchten 23,2 ccm $n/10\text{-H}_2\text{SO}_4$. Der Gesamtstickstoff betrug also 3,248 g.

Die Flüssigkeit wurde dann mit Essigsäure schwach angesäuert und mit 25%iger Bleiacetatlösung so lange versetzt, bis kein Niederschlag mehr auftrat. (I. Bleifällung.) Der Niederschlag wurde abfiltriert, gut mit heißem Wasser ausgewaschen, in heißem Wasser suspendiert und bei Wasserbadtemperatur mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Das Filtrat vom Bleisulfid wurde auf 1 l aufgefüllt und der Stickstoffgehalt bestimmt: 10 ccm verbrauchten 0,8 ccm $n/10\text{-H}_2\text{SO}_4$. Der Stickstoffgehalt betrug also **0,1120 g N**.

In das Filtrat von der I. Bleifällung wurde abwechselnd Ammoniak und 25%ige Bleiacetatlösung eingetragen, bis kein Niederschlag mehr entstand. (II. Bleifällung.) Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit kaltem Wasser gewaschen, in heißem Wasser suspendiert und bei Wasserbadtemperatur mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Das Filtrat vom Bleisulfid wurde auf 500 ccm aufgefüllt und der Stickstoff bestimmt. 10 ccm verbrauchten 9,4 ccm $n/10\text{-H}_2\text{SO}_4$. Der Stickstoffgehalt betrug also **0,6601 g**.

Die folgenden Versuche wurden analog dem oben geschilderten verarbeitet.

Einem **magenlosen** Hund, der eine Ileumfistel 125 cm vor der Ileocökalklappe besaß, wurden 15 g Thymonucleinsäure zugeführt und der Darminhalt aufgefangen. Nach mehrtägiger Brutschrankverdauung resultierte eine braune Flüssigkeit, die filtriert wurde. Es war ein ganz geringer Filterrückstand vorhanden.

Das Filtrat wurde auf 400 ccm aufgefüllt und der Stickstoffgehalt bestimmt: 5 ccm verbrauchten 24,4 ccm $n_{10}\text{-H}_2\text{S}_4\text{O}$. Der Gesamtstickstoff betrug demnach 2,7320 g.

Die «I. Bleifällung» wurde auf 1 l aufgefüllt. 10 ccm verbrauchten bei der Stickstoffbestimmung 1,4 ccm $n_{10}\text{-H}_2\text{SO}_4$. Der Stickstoffgehalt betrug demnach **0,1960 g**.

Die «II. Bleifällung» wurde auf 400 ccm aufgefüllt und 10 ccm zur Stickstoffbestimmung verwendet. Diese verbrauchten 7,8 ccm $n_{10}\text{-H}_2\text{SO}_4$. Der Stickstoffgehalt betrug also **0,4368 g**.

Einem **pankreassaftlosen** Hund, der eine Fistel 125 cm vor der Ileocökalklappe besaß, wurden 20 g Thymonucleinsäure zugeführt und der Darminhalt 6 $\frac{1}{2}$ Stunden aufgefangen. Der Chymus bestand aus gelatineartigen Stücken. Nach 3 tägiger Brutschrankverdauung wurde eine dunkle Flüssigkeit erhalten, die am Boden einen stark verunreinigten, gelatinösen Niederschlag zeigte. Das Filtrat hiervon wurde auf 500 ccm aufgefüllt und 5 ccm kjeldahlisiert. Diese verbrauchten 15,0 ccm $n_{10}\text{-H}_2\text{SO}_4$.

Der Gesamtstickstoff betrug demnach 2,1000 g N.

Der «I. Bleiniederschlag» wurde auf 500 ccm aufgefüllt. 10 ccm verbrauchten nach Kjeldahl 1,4 ccm $n_{10}\text{-H}_2\text{SO}_4$. Der Stickstoffgehalt betrug also **0,0980 g**.

Der «II. Bleiniederschlag» wurde auf 1 l aufgefüllt und 25 ccm zur Stickstoffbestimmung verwendet. Diese verbrauchten 12,7 ccm $n_{10}\text{-H}_2\text{SO}_4$. Der Stickstoffgehalt betrug also **0,7912 g**.

Einem **pankreaslosen** Hund, der eine Darmfistel an der Ileocökalklappe besaß, wurden 20 g Thymonucleinsäure zugeführt. Der aufgefangene Chymus wurde mehrtägiger Brutschrankverdauung unterworfen.

Nachdem von einem geringen gelatinösen, stark verunreinigten Rückstand abfiltriert war, wurde die Flüssigkeit auf

400 ccm aufgefüllt. 5 ccm kjeldahlisiert verbrauchten 11,05 ccm n_{10} -H₂SO₄. Der Gesamtstickstoff betrug also 1,236 g.

Der «I. Bleiniederschlag» wurde auf 500 ccm aufgefüllt. 10 ccm verbrauchten nach Kjeldahl 1,5 ccm n_{10} -H₂SO₄. Der Stickstoffgehalt betrug also 0,1050 g.

Der «II. Bleiniederschlag» wurde auf 500 ccm aufgefüllt. 10 ccm verbrauchten nach Kjeldahl 5,5 ccm n_{10} -H₂SO₄. Der Stickstoffgehalt betrug also 0,3810 g.

Aus den vereinigten II. Bleiniederschlägen konnten 0,4 g Guanosin isoliert werden. Die Substanz gab eine starke Orcinprobe und enthielt Guanin. Adenosin wurde nicht gefunden.

Die Versuche mit reinen Fermentlösungen wurden folgendermaßen angestellt:

10 g Thymonucleinsäure wurden heiß in 300 ccm Wasser gelöst und nach Abkühlung auf ca. 40° 50 ccm durch eine geringe Menge Darmsaft aktivierten Pankreassaftes zugesetzt. Der Pankreassaft gab eine stark positive Probe mit Seidenpepton.

Die Flüssigkeit wurde mit Toluol versetzt und vom 24. III. bis 25. IV. 11 in den Brutschrank gestellt. Nach Ablauf dieser Zeit war in der Lösung mit HNO₃ und Ammonmolybdat keine freie Phosphorsäure nachzuweisen. Dagegen entstand mit verdünnter Salzsäure ein starker Niederschlag von Nucleinsäure.

Die Lösung wurde auf 500 ccm aufgefüllt und 10 ccm kjeldahlisiert. Sie verbrauchten 19,4 ccm n_{10} -H₂SO₄.

Der Gesamtstickstoff betrug demnach 1,3580 g.

20 ccm wurden nun mit Bleiacetat wie in den vorhergehenden Versuchen behandelt und die einzelnen Fällungen selbst zur Stickstoffbestimmung verwendet. Die II. Bleifällung wurde vorher zur Vertreibung des Ammoniaks mit Magnesiumoxyd gekocht.

Die I. Bleifällung verbrauchte 25,5 ccm n_{10} -H₂SO₄, woraus sich für 500 ccm ein Stickstoffgehalt von 0,8950 g ergibt.

Die II. Bleifällung verbrauchte 3,7 ccm. Daraus läßt sich für diese Fraktion ein Gesamt-N-Gehalt von 0,1295 g berechnen.

Ein weiterer Versuch wurde ganz analog dem eben beschriebenen mit 50 ccm Darmsaft angesetzt und ebenso verarbeitet.

Nach der Brutschrankverdauung ließ sich mit HNO_3 und Ammonmolybdat freie Phosphorsäure nachweisen, während mit verdünnter Salzsäure nur eine geringe Trübung entstand.

Die Flüssigkeit wurde auf 500 ccm aufgefüllt. 10 ccm verbrauchten nach Kjeldahl 19,3 ccm $n_{10}\text{-H}_2\text{SO}_4$. Der Gesamtstickstoff betrug also 1,3530 g.

20 ccm wurden mit Bleiacetat fraktioniert gefällt.

Die I. Bleifällung verbrauchte nach Kjeldahl 4,8 ccm $n_{10}\text{-H}_2\text{SO}_4$, woraus sich ein Gesamtstickstoffgehalt von **0,1680 g** berechnen läßt.

Die II. Bleifällung verbrauchte 6,3 ccm $n_{10}\text{-H}_2\text{SO}_4$, was einen Stickstoffgehalt von **0,2275 g** für diese Fraktion ergibt.

Das Filtrat hiervon wurde ebenfalls nach Vertreibung des Ammoniaks durch Kochen mit Magnesiumoxyd zu einer Stickstoffbestimmung verwendet. Es wurden 27,0 ccm $n_{10}\text{-H}_2\text{SO}_4$ verbraucht, woraus sich ein Gesamtstickstoffgehalt von **0,9450 g** ergibt.