

Die Umwandlung des Eiweiss durch die Darmwand.

Von

Otto Cohnheim.

(Aus dem physiologischen Institut zu Heidelberg.)

(Der Redaction zugegangen am 11. August 1901.)

Im Jahre 1880 hat Salvioli¹⁾ in Ludwig's Laboratorium, im Jahre 1881 hat Hofmeister²⁾ gefunden, dass die überlebende Darmschleimhaut Pepton verschwinden lässt, d. h. es in einer Weise verändert, dass es mit den üblichen Reactionen nicht mehr nachgewiesen werden kann. Hofmeister zog daraus den Schluss, dass die Peptone bei der Resorption von den Leucocyten der Darmwand assimiliert würden, und durch diese, also als Eiweiss und sogar als Zelleiweiss den Organen zugeführt würden.³⁾ Diese letztere Hypothese wies Heidenhain⁴⁾ zwar zurück, aber auch er und Shore⁵⁾ hielten an der Annahme einer Rückverwandlung der Peptone in Eiweiss fest, und verlegten sie nur statt in das Lymphgewebe des Dünndarms in die Epithelien desselben. Die Annahme der Restitution der Peptone zu Eiweiss stützte sich ausser auf die Beobachtungen Hofmeister's und Salvioli's auf die von Hofmeister⁶⁾ und Neumeister⁷⁾ festgestellten Thatsachen, dass Pepton in den Geweben, im Blut und in der Lymphe

1) G. Salvioli, Arch. f. (Anat. u.) Physiol., Suppl. S. 95.

2) F. Hofmeister, Zeitschr. f. physiolog. Chemie, Bd. VI, S. 51 und 69. 1881.

3) F. Hofmeister, Schmiedeberg's Arch. f. exper. Pathol. und Pharmakologie, Bd. 19, S. 1. 1885. — Bd. 20, S. 291, 1886. — Bd. 22, S. 306. 1887. — J. Pohl, *ibid.*, Bd. 25, S. 31. 1889.

4) R. Heidenhain, Pflüger's Arch., Bd. 43, Suppl. 1888.

5) L. E. Shore, Journ. of Physiology, Bd. 11, S. 528. 1890.

6) F. Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. V, S. 127. 1881.

7) R. Neumeister, Zeitsch. f. Biologie, Bd. 24, S. 272. 1888.

auch verdauender Thiere fehlt, und dass künstlich eingeführtes Pepton ganz oder grösstentheils durch die Niere oder den Darm ausgeschieden wird. Die früher ebenfalls als Beweis angeführte Giftigkeit der Albumosen und Peptone kann seit der Entdeckung des Peptozyms durch Pick und Spiro¹⁾ nicht mehr herangezogen werden.

Ein positiver Beweis für die Restitution des Eiweisses wurde nicht erbracht; denn die unter Kronecker's Leitung ausgeführten Untersuchungen von v. Ott,²⁾ Popoff³⁾ und Brinck⁴⁾ ergaben nur das Auftreten von Eiweiss neben bezw. an Stelle der Peptone im Darm. Da aber Darm und Magen Eiweiss secerniren, beweisen sie nichts für dessen Entstehung aus dem Pepton. Im Jahre 1890 nahm Neumeister⁵⁾ die Frage wieder in Angriff und zeigte durch einen einfachen Versuch, dass in der That der lebenden Darmschleimhaut die Fähigkeit zukommt, Peptone dem Nachweis zu entziehen. Aber er enthielt sich jedes Urtheils darüber, ob hier wirklich eine Restitution zu nativem Eiweiss und nicht vielmehr eine weitere Spaltung der Peptone vorliege; ja er hat zwei Spaltungsprodukte der Peptone, Leucin und Tyrosin, gefunden.

Nichtsdestoweniger sind Neumeister's Versuche sehr allgemein als ein weiterer Beweis für den Wiederaufbau des Eiweisses in der Darmwand aufgefasst worden, zumal sich in den Verhältnissen der Fettresorption eine willkommene Analogie bot. Eine experimentelle Untersuchung habe ich seit der Neumeister'schen Arbeit nicht finden können. Ich habe daher schon seit geraumer Zeit versucht, Neumeister's Versuche wieder aufzunehmen und fortzuführen. Meine Absicht dabei war, das synthetisch von den Zellen der Darmwand gebildete Eiweiss zu isoliren. Diese Versuche sind sämmtlich gescheitert und der Grund wird im Folgenden ersichtlich werden.

1) E. P. Pick u. K. Spiro, Zeitschr. f. physiolog. Chem., Bd. XXXI, S. 235. 1900.

2) v. Ott, Arch. f. (Anat. u.) Physiol., 1883, S. 1.

3) Nadine Popoff, Zeitschr. f. Biologie, Bd. 25, S. 427. 1889.

4) Julia Brinck, *ibid.*, Bd. 25, S. 453. 1889.

5) R. Neumeister, *ibid.*, Bd. 27, S. 309. 1890.

Bei dem gänzlich negativen Ausfall aller Experimente halte ich es für zwecklos, näher darauf einzugehen. Am künstlich durchbluteten, an dem in Blut liegenden Darm, bei Anwendung des Presssaftes der Darmschleimhaut vermochte ich wohl ein Verschwinden von zugesetzten Albumosen und Peptonen zu beobachten, dagegen niemals eine Vermehrung des Eiweisses. Erst die Untersuchung der vom Eiweiss befreiten, kein Pepton mehr enthaltenden Flüssigkeit brachte mich auf die richtige Spur. Das Pepton wird nicht restituiert, sondern es wird im Gegentheil von der Darmschleimhaut weiter zerlegt, in krystallinische Spaltungsprodukte verwandelt.

Als Pepton verwendete ich die peptischen Verdauungsprodukte des Muskelfleisches. Ich digerirte eine grössere Menge Rindfleisch, das von Fett und Sehnen möglichst befreit war, 2 Tage mit warmem Wasser unter Zusatz von Chloroform und Toluol, und presste es ab. Die wässrige Lösung wurde bei saurer Reaction aufgekocht, die geringe Menge dabei coagulirten Eiweisses mit dem in Wasser unlöslichen Rückstand vereinigt, und dieser wiederholt erst mit Alkohol, dann mit Aether behandelt. Ich erhielt so ein lufttrockenes, staubendes, gelbliches Pulver, das fast ausschliesslich aus den Eiweisskörpern der Muskeln bestehen musste und nur wenig andere Körper enthalten konnte. 288 g davon wurden mit 5 Liter Oxalsäure von 2% angesetzt, 10 g Pepsin von Finzelberg, sowie 5 g Pepsinum purissimum von Grübler hinzugesetzt und 11 Tage bei Brut-, dann noch 19 Tage bei Zimmertemperatur der Verdauung überlassen. Das Fleisch ging bald in Lösung, doch fand sich am Ende der Verdauung ein ziemlich reichlicher schmieriger Bodensatz, der sich bei erneuter 4tägiger Verdauung mit Oxalsäure und Pepsin auch nur theilweise löste und zum Theil in Aether löslich war. Nach Entfernung dieses unverdaulichen Rückstandes wurde die Flüssigkeit mit kohlensaurem Kalk von Oxalsäure befreit, durch Eindampfen concentrirt und ein geringer, wohl aus Dysalbumose bestehender Niederschlag abfiltrirt. Ich erhielt so eine ganz klare Lösung, etwa von der Farbe dunklen

Bieres, die weder mit Chlorcalcium noch mit Oxalsäure Niederschläge gab, von folgenden Eigenschaften:

Die Lösung gibt eine wunderschöne, rein rothe Biuretreaction, die noch bei einer Verdünnung aufs 1000fache erkennbar ist, ebenso eine schöne Millon'sche und eine deutliche Schwefelbleireaction. Die Molisch'sche Reaction ist dagegen nur eben angedeutet. Mehrere übereinstimmende Kjeldahlbestimmungen ergaben, dass 1 ccm. 19,3 mg Stickstoff enthält. Mit dem üblichen Factor 6,25 multiplicirt, ergibt das die Verdauungsprodukte von etwa 12 g Eiweiss in 100 ccm. — Salpetersäure gibt nur bei Zusatz von sehr viel Kochsalz eine ganz geringe Trübung, die beim Erhitzen verschwindet, beim Erkalten wiederkehrt. Ammonsulfat erzeugt bei Halbsättigung gar keinen Niederschlag, bei $\frac{2}{3}$ Sättigung eine geringe Opaleszenz, bei Ganksättigung bei neutraler Reaction einen spureweisen, bei saurer Reaction einen sehr geringen Niederschlag. Primäre Albumosen fehlen also ganz, Deuteroalbumosen sind nur sehr wenig vorhanden, die Lösung enthält vielmehr fast ausschliesslich Peptone, Amphopepton nach der Kühne'schen Nomenclatur. Auf etwa vorhandene weitere Spaltungsprodukte habe ich nicht geachtet. Phosphorwolframsäure gibt einen dicken Niederschlag, der bei 10facher Verdünnung ungefähr drei Viertel des Stickstoffs enthält. Das Filtrat gab, auch als ich mit concentrirter Phosphorwolframsäure und mit phosphorwolframsaurem Kalk unter Zusatz von wenig Salzsäure fällte, noch eine starke Biuretreaction. Die Peptonlösung reagirte deutlich alkalisch.

Mit dieser Peptonlösung habe ich nun zunächst die Neumeister'schen Versuche wiederholt. 3—5 cm. wurden zu verdünntem Blut gesetzt, in die körperwarmer Flüssigkeit wurden Darmstückchen von ganz frisch getödteten Hunden und Katzen geworfen und ein Sauerstoffstrom durchgeleitet. Nach 2 Stunden wurde durch Gaze filtrirt, das Eiweiss des Blutes coagulirt und im Filtrat mittelst der Biuretreaction auf Pepton geprüft; die Prüfung fiel negativ aus oder es zeigte sich eine ganz schwache Violettfröbung, die unbedenklich auf der Coagulation entgangene Eiweissreste bezw. auf Albumosen, die

bei der Coagulation aus dem Eiweiss entstanden waren, bezogen werden konnte, und die jedenfalls mit der äusserst starken Biuretreaction einer entsprechend verdünnten Peptonlösung nicht entfernt zu vergleichen war. Ich ersetzte dann das verdünnte Blut durch Ringer'sche Lösung — enthaltend 0,2 g NaHCO_3 , 0,1 g CaCl_2 , 0,075 g KCl und 8,5 g ClNa im Liter — und fand, dass auch hierbei die Biuretreaction verschwand. Allerdings schien es mir ebenso wie Neumeister, dass die Wirkung etwas geringer war, als bei Anwendung von Blut. Immerhin vermag der 3. Theil des Dünndarms einer Katze oder eines kleinen Hundes in dieser Kochsalzlösung in 2 Stunden in 5 ccm. der beschriebenen Peptonlösung die Biuretreaction zu vernichten, also etwa 0,6 g Pepton umzuwandeln. Die Anwendung der Kochsalzlösung an Stelle des Blutes gewährt den grossen Vortheil, dass man nur die geringen Mengen Eiweiss in der Flüssigkeit hat, die im Laufe des Versuches aus der Darmwand in Lösung gehen.

Ich möchte hier eine technische Bemerkung einschalten.

Die genaue Coagulation des Eiweisses habe ich mir dadurch sehr erleichtert, dass ich immer eine gewisse Menge concentrirter Kochsalzlösung hinzusetzte. Man kann dann ruhig einen Ueberschuss von Essigsäure nehmen und darf die Flüssigkeit auch wirklich zum Kochen erhitzen,¹⁾ ohne befürchten zu müssen, Albumosen ins Filtrat zu erhalten. Ich habe bei Zusatz von Kochsalzlösung bei diesen und den folgenden Versuchen, bei denen ich zum Theil mit grossen Mengen schwierig coagulirbarer Eiweisskörper aus der Schleimhaut und der Muscularis des Darms zu thun hatte, fast immer ein klares Filtrat erhalten, das weder Eiweiss noch dessen Umwandlungsprodukte enthält. Andere Salze, z. B. Zinksulfat, thun denselben Dienst. Will man im Filtrat die Biuretreaction anstellen, so thut man gut, reines, kalkfreies Chlornatrium zu nehmen, da die starke Natronlauge sonst eine Trübung hervorruft.

Als ich nun die von Eiweiss befreite, keine Biuretreaction mehr gebende Peptonlösung mit Phosphorwolframsäure prüfte,

¹⁾ W. His u. W. Hagen, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XXX, S. 350. 1900.

gab sie einen reichlichen, und zwar krystallinisch aussehenden Niederschlag. An Stelle des Peptons waren also andere, mit Phosphorwolframsäure fällbare Substanzen in Lösung, und Stickstoffbestimmungen nach Kjeldahl ergaben, dass noch der gesammte, als Pepton zugesetzte Stickstoff in dem enteiwaissten Filtrate vorhanden war.

Folgender Versuch diene als Beispiel:

In einem Wasserbade von Körpertemperatur stehen 3 Cylinder, durch die ein Sauerstoffstrom perlt.

Cylinder I enthält 95 ccm. Kochsalzlösung nach Ringer + 5 ccm. Peptonlösung = 96,5 mg Stickstoff. Cylinder II enthält 100 ccm. Kochsalzlösung, Cylinder III 70 ccm. Kochsalzlösung + 5 ccm. Pepton = 96,5 mg. Stickstoff + 25 ccm. defibrinirtes Blut. Dann wurde ein junger, in voller Verdauung befindlicher Hund getödtet, sein Darm sofort herausgenommen, der Länge nach aufgeschlitzt, mit warmer physiologischer Kochsalzlösung mehrmals abgespült, möglichst schnell in Stückchen von 1—2 ccm. Länge zerschnitten, und die Darmstückchen möglichst gleichmässig auf die 3 Cylinder vertheilt. Nach $2\frac{1}{2}$ Stunden wurden die 3 Flüssigkeiten durch Gase filtrirt, um die Darmstücke zu entfernen, und mit Kochsalzlösung nachgespült. Das Eiweiss wurde in den dreien durch Coaguliren entfernt. Die Filtrate zeigten bei allen dreien keine Biuret-reaction. Filtrat II enthielt 23,8 mg Stickstoff, der nur aus dem verdauenden Darne stammen konnte, und also bei allen dreien gleichmässig anzunehmen war. Demnach waren in den beiden andern Cylindern $96,5 + 23,8 = 120,3$ mg Stickstoff im Filtrat vom coagulirten Eiweiss zu erwarten. Cylinder I enthielt 110 mg., Cylinder III 107,8 mg. Stickstoff. Da ich die Eiweissniederschläge nur wenig ausgespült habe, ist das geringe Deficit erklärlich; weitaus der grösste Theil des Stickstoffs findet sich nach wie vor im Filtrat, aber nicht mehr als Pepton.

Die nächste Frage war nun, ob es sich hier um eine fermentative Spaltung der Peptone handelte, oder ob eine Einwirkung der organisirten lebenden Darmwand vorlag. Die letztere konnte ebenfalls in einer Spaltung bestehen; es konnten aber auch die Peptone assimiliert und dafür irgend etwas

anderes ausgestossen werden. Um dies zu entscheiden, verwandte ich zu den folgenden Versuchen nicht den Darm, sondern dessen wässerigen Extract. Ich nahm den Darm frisch getödteter Hunde, schlitze ihn auf, spülte ihn ab und schabte mit einem scharfkantigen Glasstück die Schleimhaut ab, wobei ich einen mehr oder weniger grossen Theil der Muscularis mit erhielt. Das Abgeschabte wurde gründlich mit Sand zerrieben, ein- oder mehrmals $\frac{1}{2}$ —12 Stunden mit alkalischer physiologischer Kochsalzlösung extrahirt und mit einer eisernen Tincturenpresse ausgepresst. Ich erhielt so eine gelbliche oder gelbröthliche, trübe Flüssigkeit, die sehr reichlich Eiweiss enthielt. Im Verlauf einiger Stunden, bei Körpertemperatur schneller, liess sie einen reichlichen Niederschlag fallen. Ob dies nur Myogen und Myosin aus der Muscularis ist, oder ob auch die Schleimhaut derartige gerinnende Eiweisskörper enthält, weiss ich nicht. Essigsäure fällt den grössten Theil der Eiweisskörper, aber nicht alle. Durch Coagulation mit Essigsäure und Kochsalz enthält man ein klares Filtrat, das keine Spur von Biuretreaction zeigt, mit Phosphorwolframsäure dagegen einen bisweilen reichen, bisweilen nur angedeuteten Niederschlag gibt.

Setzte ich nun zu diesem Extract des Darmes einige Cubikcentimeter meiner Peptonlösung, schüttelte um und coagulierte sofort, oder nach wenigen Minuten, so erhielt ich im Filtrat eine schöne, der angewandten Peptonmenge entsprechende Biuretreaction. Liess ich aber den mit Pepton versetzten Extract erst einige Zeit in der Wärme stehen und untersuchte dann, so war die Biuretreaction verschwunden, Phosphorwolframsäure aber erzeugte einen reichlichen, krystallinisch aussehenden Niederschlag, und das Filtrat des Eiweissniederschlages enthielt den gesammten Stickstoff des Peptons.

Als Beispiel nehme ich folgenden Versuch:

Der Dünndarm einer in Verdauung befindlichen Katze liefert 195 ccm. Presssaft. 20 ccm. werden coagulirt; das Filtrat enthält 3,4 mg N, die restirenden 175 ccm. also 29,75 ccm. Diese werden mit 8 ccm. Pepton versetzt = 154,4 mg N. Also enthalten diese 183 ccm. $154,4 + 29,75 = 184$ mg N, je 20 ccm. also 20 mg.

1.	Nach	5 Minuten	schönste Biuretreaction	18,4 mg N
2.	»	60 »	schwache »	23,1 » »
3.	»	100 »	spurweise »	23,1 » »
4.	»	195 »	keine »	23,5 » »

Etwas später wird der ganze Rest coagulirt; das Filtrat gibt keine Biuretreaction und enthält 109 mg N statt der geforderten 103 mg.

Die Vermehrung des Filtratstickstoffs zwischen 1 und 2 beruht vermuthlich auf der Lösung von Eiweiss durch Trypsin. Doch wurden auch hier, um zu grosse Flüssigkeitsmengen zu vermeiden, die dicken Eiweissniederschläge wenig ausgewaschen, und die Zahlen sind daher nicht allzu genau.

Jedenfalls beweisen sie aber unzweideutig, dass das Extract der Darmschleimhaut wie diese selbst wirkt, dass die Umwandlung der Peptone durch die Zellen der Darmwand also nicht an deren Leben geknüpft, demgemäss ein fermentativer Process ist.

Es galt, dies Ferment zu isoliren. Ich bediente mich dazu der fractionirten Aussalzung mit Ammonsulfat, wie sie in letzter Zeit für die Isolirung der Fermente von Jacoby¹⁾ mit so glänzendem Erfolge angewendet worden ist. Die Fraction 60 bis 100 ist ganz unwirksam, das Ferment geht dagegen vollständig in die Fraction 0—60. Bei Sättigung zu 25 und 30% ist das Ferment im Niederschlage und im Filtrate. Bei Versetzung von 2 Theilen des Darmextractes mit 3 Theilen concentrirter Ammonsulfatlösung entsteht ein dicker Niederschlag, der abfiltrirt, in Wasser suspendirt und dialysirt wurde. Der grösste Theil der Eiweisskörper wird dabei unlöslich und bleibt in Klumpen im Dialysor liegen. Eine kleine Menge Eiweiss und das Ferment geht in Lösung. Durch nochmalige Extraction des unlöslichen Rückstandes kann man noch beträchtliche Fermentmengen gewinnen. Die so erhaltene Lösung, die in 3—4 Tagen ammoniumsulfatfrei wurde, ist etwas opalescent

¹⁾ M. Jacoby, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XXX, S. 135. 1900. — Bd. XXX, S. 166. 1900. — Derselbe, Schmiedeberg's Arch., Bd. 46, S. 28. 1901. — Derselbe, Hofmeister's Beiträge zur chemischen Physiologie u. Pathologie, Bd. I. S. 51. 1901.

und enthält eine geringe Menge Eiweiss. Sie wandelt zugesetztes Magenpepton schnell um. Je 50 ccm. wurden mit 3 ccm. versetzt, einige Stunden stehen gelassen, das Eiweiss durch Kochen mit Essigsäure und Chlornatrium entfernt und in dem biuret-freien Filtrat der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. Es fanden sich 55 und 56 mg Stickstoff, während 3 ccm. Pepton 58 mg enthalten und das Filtrat einer Kontrollprobe ohne Pepton-zusatz 1,75 mg N enthielt. Das Pepton geht also nicht etwa eine Verbindung mit dem Eiweiss ein, oder ähnliches, sondern es wird wirklich durch die Fermentlösung verändert, und diese Veränderung ist eine Spaltung in krystallinische Produkte.

Ich fällte die entstandene Lösung mit Phosphorwolframsäure und vermochte in dem Filtrat von der Fällung Leucin und Tyrosin in schönen Krystallen nachzuweisen. Auch gibt die biuretfreie Lösung eine schöne Millon'sche Reaction. Die Untersuchung des Phosphorwolframsäureniederschlages auf Hexonbasen ist noch nicht abgeschlossen. Tryptophan konnte ich nicht entdecken.

Es liegt hier also ein Ferment vor, das Pepton spaltet, und es war nun die Frage, ob ich es mit Trypsin zu thun hatte, das ja in dem Darmextracte verdauender Thiere vorhanden sein konnte. Dagegen sprachen allerdings seine Fällungsgrenzen mit Ammonsulfat; denn Trypsin fällt nach Jacoby¹⁾ erst von 65% Sättigung an. Ganz scharf ist diese Grenze freilich nicht; ich konnte gelegentlich Trypsin auch in der ersteren Fraction in geringer Menge entdecken.

Dagegen unterscheidet sich das vorliegende Ferment der Darmschleimhaut in seinen Eigenschaften ganz scharf vom Trypsin des Pankreas. Während es Pepton schnell und reichlich spaltet, wirkt es auf native Eiweisskörper überhaupt nicht ein. Eine Flocke ungekochten Fibrins wird von der Fermentlösung in 24 Stunden bei Körper- wie bei Zimmer-temperatur auch nicht im Geringsten angegriffen, womit ja jede tryptische Wirkung ausgeschlossen ist. Ferner werden die Eiweisskörper der Fermentlösung selbst auch in Wochen nicht

1) M. Jacoby, Schmiedeberg's Arch. 46, 28. 1901.

gespalten. Ich liess dann die Fermentlösung 4 Tage bei Körpertemperatur mit verdünntem Katzenserum stehen; nach der Coagulation des Eiweisses war nichts mit Phosphorwolframsäure Fällbares in Lösung. Also werden auch Serumalbumin und Seroglobulin von dem Ferment nicht angegriffen. Auch die coagulirten Serumeiweisse wurden nicht verändert.

Es handelt sich also zweifellos um ein eigenes Ferment, das auf Eiweiss nicht, wohl aber auf Pepton spaltend wirkt. Ich schlage vor, dies Ferment Erepsin zu nennen, abgeleitet von ἐρείπω, ich zertrümmere. Das Erepsin würde so sprachlich ein Synonym des Trypsins sein.

Was nun die näheren Eigenschaften des Erepsins anlangt, so ist es mir bisher nicht gelungen, es eiweissfrei zu erhalten. Weder Jacoby's Uranylacetatmethode noch andere Versuche führten zu einer eiweissfreien und dabei noch einigermaßen wirksamen Lösung. Doch stört das Eiweiss die Untersuchung insofern wenig, als es leicht durch Coagulation exact entfernt werden kann. Das Erepsin wird durch Kochen zerstört, durch 2 stündiges Erwärmen auf 63° stark geschwächt. Es spaltet Pepton bei schwach alkalischer wie bei neutraler Reaction, bei schwach saurer Reaction wirkt es dagegen nicht. Ein einstündiges Stehen bei durch Essigsäure bedingter saurer Reaction zerstört das Ferment nicht; wenn man dann alkalisch macht, wirkt es wieder. Längeres Stehen mit Salzsäure scheint es zu zerstören. Alkoholbehandlung schwächt wenigstens sehr stark ab.

Die auf die oben beschriebene Weise dargestellten Erepsinlösungen waren recht wirksam. 15 ccm. spalteten 0,5 ccm. der Magenpeptonlösung, also entsprechend etwa 0,06 g Pepton in 45 Minuten nahezu vollständig; 75 ccm. etwa 5 g Pepton in 4 Stunden zum grösseren Theil. Neben dem Verschwinden der Biuretreaction ist sehr schön die Veränderung des Phosphorwolframsäureniederschlages zu sehen. Wenn man sofort nach dem Zufügen des Peptons enteiwesst, so erzeugt Phosphorwolframsäure im Filtrat eine reichliche gelatinöse, lockere, sich langsam absetzende Fällung, wie sie für Eiweissniederschläge charakteristisch ist. Bei der oben angegebenen Con-

centration, 0,06 Pepton zu 15, nimmt die Fällung etwa ein Drittel der Flüssigkeit ein. Nach der Erepsinwirkung erzeugt Phosphorwolframsäure einen krystallinischen, weissen Niederschlag, der sich schnell zu Boden senkt und dessen Volumen viel kleiner ist als vorher.

Ich habe das Erepsin auf andere Peptone und Albumosen wirken lassen. Ich verdaute Casein und Serum mit Salzsäure und Grübler'schem Pepsin und liess auf die Pepton und Albumosen enthaltende, neutralisirte Lösung Erepsin wirken. Die Biuretreaction verschwand nach längerer oder kürzerer Zeit. Ebenso verdaute ich Casein und Serum erst mit Trypsin, einem durch Selbstverdauung von Rinderpankreas gewonnenem Präparat, das noch eine schwache Biuretreaction gab; das Casein gab eine sehr starke, das Serum eine schwache Biuretreaction, das Serum enthielt daneben noch viel coagulables Eiweiss. In beiden wurde die Biuretreaction durch Erepsin vernichtet. Wirft man Fibrin in ein Gemisch von Trypsin und Erepsin, so wird die Flocke verdaut, und im Filtrat findet man nach längerer oder kürzerer Zeit, je nach den Mengenverhältnissen beider Fermente, keine Biuretreaction mehr.

Ich brauche nicht auszuführen, dass die Kombination von Pepsin oder Trypsin mit dem Erepsin offenbar ein sehr gutes Mittel darstellt, um Eiweisskörper schnell und ohne starke Eingriffe vollständig zu zerlegen.

Von Neumeister rühren bereits Beobachtungen her über die Spaltung der einzelnen Albumosen durch die Darmschleimhaut, also das Erepsin. Er fand, dass, nach damaliger Bezeichnung, Protalbumose und beide Deuteroalbumosen umgewandelt wurden. Heteroalbumose lieferte kein sicheres Ergebniss. Ich habe an den Pepsinpeptonen des Fleisches, wie auch an denen des Caseins, beobachtet, dass der grösste Theil sehr schnell gespalten wird. Bei einer Concentration, bei der ich vorher grosse Mengen Kupfersulfat zusetzen konnte, ohne ein Verdecken der Biuretfarbe befürchten zu müssen, bedurfte es nach einstündiger Erepsinwirkung eines sehr vorsichtigen tropfenweisen Zusetzens, um noch eine schwache Violettanfärbung zu erzielen. Dieser kleine Rest aber verschwand oft erst nach

sehr viel längerer Zeit, nach mehreren bis 24 Stunden. Es kann sich hier um eine asymptotische Fermentwirkung handeln; der Grund kann aber auch sein, dass sich in dem Gemenge der Magenpeptone ein schwer angreifbares neben den leicht spaltbaren findet. Ich habe dann Witte-Pepton nach Pick¹⁾ in mehrere Fractionen zerlegt. Die primären Albumosen wurden in 36 Stunden von Erepsin nicht angegriffen, wenigstens zeigte die Biuretreaction keine merkbare Abnahme. Die Deuteroalbumose B wurde in 19 Stunden vollständig zerlegt. Deuteroalbumose A und C waren in dem Witte-Peptonpräparat nur in Spuren vorhanden. Ferner fällte ich Witte-Pepton mit der gleichen Menge 96%igen Alkohols; dann ist nach Pick im Filtrat die Proto-, im Niederschlag die Heteroalbumose, die Deuteroalbumosen vertheilen sich. In beiden Fractionen vermochte ich eine Abschwächung, aber keine Aufhebung der Biuretreaction zu sehen. Endlich entfernte ich aus dem Witte-Pepton nach Folin²⁾ die primären Albumosen durch Kupferacetat. Das nicht durch Kupfer fällbare Gemenge der Deuteroalbumosen wurde vom Erepsin gut zerlegt, doch machte ich dieselbe Beobachtung wie beim Magenpepton, dass nämlich ein kleiner Rest der Biuretreaction erst am nächsten Tage verschwand. — Selbstverständlich sind diese Angaben nur ganz vorläufige. — Biuret wird von dem Erepsin so wenig gespalten wie vom Trypsin.

Der Ort der Bildung des Erepsins ist in die Darmwand zu verlegen, da ich wiederholt Extracte der Darmschleimhaut gesehen habe, die keine Spur von Trypsin, dagegen reichlich Erepsin enthielten. Ausserdem habe ich einem grossen Hunde eine Dünndarmfistel etwa 30 cm. unterhalb des Pylorus angelegt und ihn durch Einspritzen von Albumosen- und Zuckerlösungen in das abführende Ende ernährt, den Darm dabei gleichzeitig ausspülend. 5 Tage nach der Operation enthielt das obere Darmstückchen wirksames Trypsin und kein Erepsin; der untere, von Galle freie, normal aussehende Darm lieferte

1) E. P. Pick, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XXIV, S. 246. 1897.

2) O. Folin, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XXV, S. 152. 1898.

ein wirksames Erepsin, allerdings löste sein Extract Fibrinflocken in 5—7 Stunden auf, zeigte also schwache tryptische Wirkung, sodass der Versuch nicht ganz beweisend ist. Doch kann wohl ohnehin kaum ein Zweifel bestehen, dass die Darmschleimhaut selbst das Erepsin producirt. — Ob das Erepsin intracellular wirkt, oder in das Darmlumen secernirt wird, kann ich noch nicht sagen. Für das Letztere spricht Neumeister's Beobachtung, der auch im Lumen des Dünndarms einen Pepton spaltenden Stoff fand. — Ausser in den Därmen von Katzen und Hunden habe ich das Erepsin auch in denen von Schweinen gefunden.

Dass ein so wirksames Ferment wie das Erepsin bisher übersehen wurde, liegt an seiner Nichtwirksamkeit für eigentliches Eiweiss, insbesondere das meist, so von Massloff,¹⁾ benutzte Fibrin. Wenz²⁾ hat allerdings die Einwirkung der Darmschleimhaut und ihrer Extracte auf Albumosen untersucht, aber nur auf die Bildung von Pepton geachtet, und nicht auf die weiteren Spaltungsprodukte. Dagegen muss ich noch auf eine Angabe von Pawlow³⁾ eingehen. Pawlow beschreibt ein von dem Dünndarm secernirtes «Ferment der Fermente», das die Wirksamkeit des Trypsins steigert, und es liegt nahe, dabei an das Erepsin zu denken. Dass das Erepsin kein derartiges «Ferment der Fermente» ist, geht schon aus seiner Wirkung auf gekochte Pepsinpeptone hervor; ich habe mich auch noch durch besondere Versuche überzeugt, dass man die durch Trypsin aus Casein oder Fibrin entstandene Verdauungslösung vorher kochen, oder direkt ungekocht mit Erepsin versetzen kann. Das Erepsin wirkt beide Male gleich gut. Eine Erepsinlösung hat übrigens die beschleunigende Wirkung auf die Auflösung des Fibrins durch Trypsin nicht, wie sie Pawlow beschreibt, mit dem ganzen Extract habe ich keine Versuche gemacht.

1) cf. Massloff, Untersuch. a. d. Physiolog. Institut Heidelberg, 2, 290. 1880.

2) S. Wenz, Z. f. Biol., 22, 1. 1886.

3) J. P. Pawlow, Uebersetzt von A. Wölther, Das Experiment etc., Vortrag, Wiesbaden. 1900. — N. P. Schepowalnikoff, Dissert. St. Petersburg, russisch. Nach Maly's J.-B., 1899, S. 378.

Was nun die biologische Bedeutung des Erepsins anlangt, so könnte man daran denken, es mit dem autolytischen Fermente der Leber,¹⁾ Lunge²⁾ und anderer Organe³⁾ auf eine Stufe zu stellen. Ich meine, mit Unrecht. Denn es spaltet eben nicht wie diese die Eiweisskörper der Gewebe und bezieht sie in den Stoffwechsel ein, sondern es wirkt nur auf die ersten Spaltungsprodukte der Eiweisskörper, die ihm die beiden andern Fermente vorgespalten haben, und bereitet diese für die weitere Resorption vor. Es besteht sonach für die Eiweissverdauung eine erhebliche Aehnlichkeit mit der Verdauung der Kohlehydrate, speciell der Stärke. Die Stärke wird vom Ptyalin des Speichels und des Pancreas bis zur Maltose gespalten, die Darmschleimhaut aber secernirt eine Maltase, deren spaltende Wirkung die Voraussetzung für die Resorption und weitere Verwerthung der Stärke im Organismus bildet. Ganz analog ist offenbar das Verhältniss der zunächst wirkenden proteolytischen Fermente zu dem Erepsin, das ihre Arbeit vollendet.

Auf die grosse Fülle chemischer und physiologischer Probleme, die sich einem aufdrängen, will ich nicht eingehen, zumal ich mit weiteren Untersuchungen über das Erepsin beschäftigt bin. Ich möchte nur auf die gute Uebereinstimmung kurz hinweisen, in der meine Befunde mit den Stoffwechselversuchen der letzten Jahre stehen. Siven⁴⁾ hat gezeigt, dass das Eiweissbedürfniss der Menschen ein sehr viel geringeres ist, als man bisher annahm. Aus den Arbeiten von Zuntz und seinen Mitarbeitern⁵⁾ ergibt sich, dass das Eiweiss wesentlich Kraftquelle ist, wie die anderen Nahrungsmittel auch, und dass es im Organismus ausserordentlich

1) M. Jacoby, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXX, S. 149. 1900.

2) M. Jacoby, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXXIII, S. 126. 1901.

3) S. G. Hedin und S. Rowland, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXXII, S. 341. 1901. Bd. XXXII, S. 531. 1901.

4) V. O. Siven, Skandinav. Arch. f. Physiol., 10, 91. 1899. 11, 308. 1901.

5) J. Frentzel, Arch. f. (Anat. u.) Physiol., 1899, S. 383. (Verh. d. Berliner physiolog. Gesellsch.) — H. N. Heinemann, Pflüger's Arch., 83, 441. 1901. — J. Frentzel und F. Rench, ibid. 83, 477. 1901. — N. Zuntz, ibid. 83, 557. 1901.

schnell, am schnellsten von allen Nahrungsmitteln, zerfällt. Es ist offenbar schwer, dies mit der Vorstellung zu vereinen, dass das Nahrungseiweiss bei der Resorption in das eigene Eiweiss des Organismus umgewandelt wird, um dann gleich wieder zu zerfallen. Jetzt aber sehen wir, dass der Körper im Gegentheil das Eiweiss vor der Resorption in seine leicht verbrennlichen Bruchstücke zerschlägt und erst diese aufnimmt und den Organen zuführt. Wir können es zwar natürlich einstweilen noch nicht ausschliessen, dass auch der nicht-wachsende, im Stickstoffgleichgewicht befindliche Organismus immer eine gewisse Menge der aufgenommenen Spaltungsprodukte des Eiweisses zu einer neuen Eiweiss-synthese, etwa in der Leber, verwerthet. Bewiesen ist das aber nicht, und gerade die Versuche von Caspari¹⁾ und Bornstein²⁾ über die Eiweissvermehrung nur bei Muskelarbeit, d. h. nur bei Bedarf, sprechen dafür, dass die Eiweiss-synthese in jede einzelne Zelle zu verlegen ist, und dass, abgesehen von diesen Fällen gesteigerter Thätigkeit und damit gesteigerten Wachstums in bestimmten Organen, mindestens die Hauptmasse des genossenen Eiweisses dem Körper einfach als Kraftquelle dient.

Ich fasse die Resultate zusammen:

1. Das von Hofmeister, Neumeister und Salvioli beobachtete Verschwinden der Peptone bei Berührung mit der Darmwand beruht nicht auf ihrer Assimilation oder ihrer Restitution zu Eiweiss, sondern auf ihrer weiteren Spaltung in einfachere Spaltungsprodukte.

2. Diese Spaltung geschieht durch ein besonderes, von der Darmschleimhaut gebildetes Ferment, das Erepsin, das nur auf Peptone und einen Theil der Albumosen, nicht aber auf genuines Eiweiss wirkt.

1) W. Caspari, Pflüger's Arch., 83, 509. 1901.

2) K. Bornstein, Pflüger's Arch., 83, 540. 1901.