Ueber eine neue Methode zur Darstellung künstlicher Verdauungsflüssigkeiten.

Von

v. Wittich.

Die ungemein leichte Löslichkeit des Pepsins in reinem Glycerin, auf welche ich bereits vor mehreren Jahren (Königsberger med. Jahrbücher, Bd. III, pag. 225) aufmerksam machte, die aber bisher so gut wie gar keine Berücksichtigung von den Physiologen erfuhr, hat mich ein Verfahren gelehrt, um nicht nur dieses aus der Magenschleimhaut, sondern auch die übrigen thierischen Fermente, welche bei der Verdauung eine Rolle spielen, in sehr bequemer und einfacherer Form zu gewinnen, als es nach den bisher geläufigen Methoden geschah. Wenn es mir nun auch bisher nicht gelang, diese Körper in absoluter Reinheit auf diesem Wege darzustellen, so stehe ich doch nicht an, schon jetzt die von mir bisher gewonnenen Resultate mitzutheilen, weil, wie ich hoffe, die Einfachheit des Verfahrens einmal eine viel grössere praktische Verwerthung, dann aber auch die Aussicht eröffnet, jene Stoffe leichter in grösserer Menge zu gewinnen, um so ihre elementare Zusammensetzung kennen zu lernen. Das Verfahren beruht einfach darauf, dass die Fermente des Magens, der Mund- und Bauchspeicheldrüsen sich mit der grössten Leichtigkeit durch Glycerin extrahiren lassen, dass das Verweilen der zerkleinerten Organe in demselben schon nach wenigen Stunden genügt, um sehr kräftig wirkende künstliche Secrete zu erhalten, dass die Erneuerung des Glycerin-Aufgusses monatelang fortgesetzt werden kann, immer neue wirksame Flüssigkeiten liefert, ohne dass das Gewebe fault, oder es in dem Glycerin zur Pilzbildung kommt, und dass sich die Fermente aus der Glycerinlösung leicht durch absoluten Alkohol ausfällen lassen. Bevor ich jedoch

auf die einzelnen Organe und ihre Fermente eingehe, erübrigt es noch, ein paar Vorfragen zu erledigen, die möglicher Weise einen Fehler in der Prüfung auf dieselbe enthalten.

Zunächst musste entschieden werden, ob das angesäuerte Glycerin nicht etwa selbst ähnliche Wirkungen auf die Albuminate ausübt, als die Pepsinlösung. Es schien mir das um so erforderlicher, als ich seit einer Reihe von Jahren meinen Vorrath von möglichst rein ausgewaschenem Fibrin stets unter Glycerin aufbewahre. Zwar verhielt sich jenes selbst nach Jahre langer Conservirung vollständig wie frisch dargestelltes Fibrin, allein es blieb doch denkbar, dass durch das Glycerin eine derartige moleculäre Lockerung eingeleitet sein könnte, dass verdünnte Chlorwasserstoffsäure es zu leichtem Zerfall disponirt. Dies ist jedoch nicht der Fall, weder in angesäuertem (HCl) Glycerin, noch nach Auswaschung des letzteren in einer 0,2 Proc. Salzsäure veränderte sich das Fibrin anders als ganz frisch gewonnenes.

Etwas anders dagegen verhielt sich das Glycerin dem gekochten Amylon gegenüber. Nach einer ein- bis mehrstündigen Einwirkung zeigt die alkalisch gemachte Flüssigkeit wenn auch nur schwach, aber doch unzweifelhaft reducirende Eigenschaften (geprüft wurde sie mit schwefels. Kupferoxyd); es ergab sich daher, dass zur Feststellung der diastatischen Wirkung der Speicheldrüsen-Fermente die Glycerin-Auszüge nicht ohne weiteres verwendet werden konnten, jedenfalls nicht auf ihre Gegenwart geschlossen werden durfte, wenn die Umwandlung des Amylons nicht in wenigen Minuten erfolgt.

I. Glycerin-Auszug aus der Magenschleimhaut.

Die von den tieferen Schichten freipräparirte Magenschleimhaut (vom Schwein und Kaninchen) wird möglichst zerkleinert mit Wasser ein wenig abgewaschen, letzteres möglichst sorgfältig abgegossen und der wenig feuchte Rückstand mit Glycerin übergossen. Sehr bald nehmen die einzelnen Schleimhautstücke jenes eigenthümlich-durchsichtige Ansehen an, welches alle Gewebe in Glycerin zeigen, nach wenigen Stunden aber hat das letztere seine Dünnsflüssigkeit verloren, erscheint fadenziehend zähe, reagirt schwach sauer und zeigt ungemein energische verdauende Wirkung auf Fibrinflocken. Wenige Tropfen des Auszugs zu einigen Cubikcentimetern Salzsäure von 0,2 Proc. verdauen bei einer Temperatur von circa 35° C. eine Fibrinflocke in Zeit weniger Minuten.

Ich bewahre dieselben Schleimhautpräparate jetzt bereits 10 Wochen, habe von Zeit zu Zeit das Glycerin abgegossen und durch neues ersetzt, noch aber zeigt der Auszug ganz ungemein energische Pepsin-Wirkung.

In meiner oben erwähnten Mittheilung in den Königsberger med. Jahrbüchern habe ich auf das eigenthümliche Verhalten der Peptonen gegen Alkali und schwefelsaures Kupferoxyd aufmerksam gemacht, musste es aber damals noch unentschieden lassen, ob nicht das Pepsin allein jene eigenthümliche weinrothe Färbung des letzteren bewirkte. Der Glycerin-Auszug aus der Magenschleimhaut führt nun unzweifelhaft Pepsin, zeigt aber jene rothe Färbung durchaus nicht. Bekanntlich theilt das reine Glycerin mit vielen Stoffen die Eigenthümlichkeit das schwefelsaure Kupferoxyd-Kali mit schön blauer Farbe gelöst zu halten, und diese Farbe ändert sich auch nicht, wenn jenes pepsinhaltige Glycerin zugefügt wird. Giesst man dagegen vorsichtig zu der blauen Lösung ein wenig des durch den Glycerin-Auszug verdauten Fibrins, so färbt sich die Berührungsschicht beider Flüssigkeiten augenblicklich intensiv roth, und um so intensiver, je mehr Fibrin verdaut wurde, je mehr Peptonen also in Lösung waren, es ist daher diese Farben-Reaction eine der empfindlichsten für den Nachweis des letzteren. Der Glycerin-Auszug enthält jedoch noch keineswegs reines Pepsin, er zeigt neben diesen noch unzweifelhaft Beimischung von Eiweisssubstanzen, kommt es aber nur darauf an, eine möglichst energische Verdauungsflüssigkeit zu gewinnen (so auch z. B. zur therapeutischen Verwendung des Pepsins), so genügt das Verfahren bis dahin vollständig, zumal es gestattet, ein und dieselbe mucosa ziemlich energisch zu erschöpfen, ohne dass man Gefahr läuft, durch Fäulniss das Präparat zu verlieren.

Kommt es darauf an, das Pepsin noch weiter von allen fremden Bestandtheilen zu befreien, so genügt es, den Glycerin-Auszug so lange mit absolutem Alkohol zu versetzen, bis keine fernere Trübung mehr eintritt. Filtrirt man letztere ab und destillirt den Alkohol des Filtrats ab, so zeigt letzteres keine verdauende Wirkung mehr, wohl aber der von Neuem mit Glycerin oder mit Chlorwasserstoffsäure (0,2 %) extrahirte Rückstand. Letztere löst denselben schnell und vollständig, jenes bedarf immer einer mehrtägigen Einwirkung, um wieder verdauend zu wirken und löst vor Allem den Rückstand nicht völlig. Filtrirt man diesen neuen Glycerin-Auszug,

so ist er vollkommen klar und wird durch überschüssigen Alkohol kaum noch getrübt. Erhält daher wohl kaum Spuren von Eiweiss.

Säuert man den Glycerin-Auszug so schwach an (Cl H), dass er etwa einer 0,2proc. Säure entspricht und übergiesst damit eine Fibrinflocke, so wird sie auch ohne vorgängige Verdünnung verdaut.

Von Interesse erscheint mir noch folgende Erscheinung. Hat man den aus dem ersten Glycerin-Auszug durch Alkohol-Fällung gewonnenen Niederschlag mit Alkohol gehörig ausgewaschen und dann in 0,2 procentiger Säure gelöst, so zeigt die so gewonnene ungemein kräftige Verdauungsflüssigkeit selbst nach wochenlangem Stehen nicht die geringste Neigung zu faulen oder zur Schimmelbildung.

II. Glycerin-Auszug aus den Speicheldrüsen.

In Anwendung kamen das Pankreas vom Rinde, Parotis und Submaxillaris vom Kaninchen; auch sie wurden zerkleinert, zunächst durch Auswaschen mit Wasser möglichst von Blut gereinigt und dann nach Abgiessen des letzteren in Glycerin aufbewahrt. Schon nach wenigen Stunden zeigten die Aufgüsse sehr energische diastatische Wirkung auf gekochtes Amylon, und zwar war dieselbe nicht nur eine sehr viel schnellere, sondern auch intensivere, als wenn man zur Probe annähernd die gleiche Menge Amylon nur mit Glycerin übergoss. Brauchte letzteres oft Stunden, um überhaupt die Gegenwart von Zucker nachweisbar zu machen, so genügten bei jenen wenige Minuten, um eine unvergleichlich stärkere Veränderung zu bewirken.

Um jedoch vollständig sicher zu gehen, wurde der Glycerin-Auszug so lange mit absolutem Alkohol versetzt, als dieser noch etwas fällt. Hierauf filtrirt und beides Filtrat und Rückstand auf ihre Ferment-Wirkung geprüft. Ersteres (nach Abdestilliren des Alkohols) veränderte das Amylon gar nicht, der in Wasser vertheilte Rückstand aber löst sich nicht vollständig, wurde daher von Neuem filtrirt und liefert so ein ungemein energisch wirkendes Filtrat.

Auch das Fibrin verdauende Ferment des Pankreas wird durch Glycerin extrahirt, aus diesem von absolutem Alkohol gefällt und in Wasser wieder gelöst, auch seine Wirkung (ohne Säure-Zusatz) ist eine ungemein kräftige. Das Verdauungsproduct reagirt gegen schwefelsaures Kupferoxyd Kali wie Peptone, d. h. färbt jenes weinroth.

Für den Pankreas-Auszug ist noch folgendes zu bemerken,

während die andern drüsigen Organe bei ihrem Verweilen in Glycerin nicht die geringste Neigung zur Zersetzung zeigen, letzteres vollkommen klar bleibt, erhält dasselbe nach mehrwöchentlicher Wirkung auf die Substanz des Pankreas ein etwas feinkörniges, wie die mikroskopische Untersuchung lehrt, von kleinen Krystalldrüsen herrührendes Ansehen, letztere setzen sich auch in ziemlicher Menge an den Gefäss-Wandungen, und bestehen aus feinen dicht gruppirten Nadeln, die wenig Charakteristisches haben, mich aber anfangs auf die Vermuthung brachten, dass ich es hier mit ausgeschiedenem Tyrosin zu thun hatte. Gleichzeitig zeigt der Auszug nach einigen Wochen einen ganz entschiedenen Geruch nach Buttersäure, der gleichfalls den andern Drüsenextracten durchaus fehlt.

Liess ich den Pankreas-Auszug durch ein Leinentuch, um alle größeren Beimischungen zu sondern, in Wasser abfließen, so trübt sich letzteres sehr stark durch flockige Massen, die zum Theil bald sich auf der Oberfläche sammelten. Wurde hierauf die wässrige Lösung filtrirt, so zeigte das vollkommen klare Filtrat ungeschwächt verdauende Wirkung auf Amylon und Fibrin. Der aus dem verdünnten Pankreas-Auszug gewonnene Rückstand aber löste sich zum grossen Theil in Aether. In der Voraussetzung, dass daher jene bei der Verdünnung sich ausscheidenden Massen hauptsächlich fette und Fettsäuren seien, dass sich aus ihrer Gegenwart auch der Geruch des Auszugs, wie seine feinkörnige Beschaffenheit nach mehrwöchentlichem Stehen erkläre, gestützt ferner auf die mikroskopische Untersuchung zweier Rinder-Pankreas, die mir einen ungemeinen Fettgehalt der Drüsenzellen zeigte, verfuhr ich in meinen ferneren Versuchen in folgender Art: Die Drüse wurde möglichst sorgfältig von allem ihr aussen anhängendem Fette befreit, alsdann recht fein zerhackt, mit Wasser übergossen und in diesem mehrfach umgerührt. Hiebei sammelt sich das noch etwa vorhandene Fettzellgewebe zum grossen Theil wenigstens an der Oberfläche und kann so mit dem Spülwasser abgegossen werden. Wiederholt man diese Manipulation einige Mal, so werden noch immer neue Fettmassen dadurch entfernt.

Ein Theil dieses so vorgerichteten Gewebes wird hierauf vom Wasser ziemlich vollständig befreit unter Aether, der andere unter absolutem Alkohol 24 Stunden hindurch aufbewahrt und von Zeit zu Zeit gehörig durchgeschüttelt. Beide Flüssigkeiten färben sich intensiv gelb und hinterlassen nach ihrer Verdunstung erhebliche

Mengen Fett. Die Gewebe wurden von Neuem mit denselben Flüssigkeiten übergossen und mit der Erneuerung fortgefahren, bis beide farblos blieben. War dies erfolgt, so wurden die Gewebsmassen in einer Reibschale (natürlich jedes für sich) mit reinem Glycerin zerrieben und alsdann durch ein nicht zu feinmaschiges Leinentuch gedrückt. Die nur mit absolutem Alkohol ausgewaschene Masse wurde übrigens noch vor der Behandlung mit Glycerin mit Aether ausgezogen. Die Glycerin-Auszüge zeigten nun nach Verlauf einiger Stunden beide ganz unzweifelhafte und sehr energische diastatische Wirkung auf Amylon. Wenige Tropfen der vollkommen klar filtrirten Flüssigkeit reichten hin, um nicht unbedeutende Mengen gekochten Amylons bei Stubentemperatur in Zeit von 10—15 Minuten vollständig in Zucker umzusetzen, aber schon nach viel kürzerer Zeit den Beginn der Umwandlung durch Reduction des Kupferoxyds anzudeuten. Wurde der so gewonnene Glycerin-Auszug mit absolutem Alkohol versetzt, so trübte sich jenes Präparat, dessen Drüsenmasse gleich anfangs mit Alkohol ausgewaschen war, nur wenig, das andere mit Aether ausgezogene sehr stark. Wurden beide Niederschläge filtrirt, so zeigten die Filtrate keine diastatische Wirkung, wohl aber die mit Wasser ausgewaschenen Rückstände.

Von dem Glycerin-Auszug, den ich aus der zerkleinerten Drüse (ohne vorausgehende Extraction durch Aether und Alkohol) gewann, unterscheiden sich die zuletzt in ihrer Wirkung beschriebenen in manchen Dingen sehr wesentlich. Zunächst ist jenes stets, selbst wenn das Drüsenparenchym mehrmals mit Wasser ausgewaschen wurde, sehr stark roth gefärbt, diese dagegen durchaus farblos, was um so auffallender ist, als auch sonst weder aus der Schleimhaut des Magens noch aus den andern Speicheldrüsen je das Glycerin Blutfarbstoff aufnimmt. Ferner zeigt jenes unzweifelhafte Reaction auf Peptonen (Schwefels. Kupferoxyd-Kali), während die vorher mit Alkohol ausgezogene Drüse einen Glycerin-Auszug liefert, die gar keine Peptone enthält (daher wohl auch der sehr geringe Niederschlag den absoluten Alkohol in ihm bewirkte), die nur mit Aether extrahirte und dann mit Glycerin behandelte Substanz aber wohl schwächer aber doch ganz unzweifelhaft auf Peptone reagirte. Endlich fehlt die peptische Wirkung jener peptonefreien Flüssigkeit vollständig, und ist am kräftigsten bei der unmittelbar nach der Zerkleinerung ausgezogenen Drüsenmasse. Es lassen sich also durch die vorhergehende Behandlung der Drüse mit Alkohol die beiden

Fermente von einander trennen, das diastatische wenigstens gesondert erhalten. In allen Fällen wurde endlich die peptische Wirkung der sonst sehr wirksamen Auszüge vernichtet, wenn man sie statt mit salzfreiem Wasser mit 0,2 Proc. Salzsäure verdünnte. Letztere trübte die sonst ziemlich klare Lösung augenblicklich. Ein Beweis mehr, dass die Fibrin verdauende Wirkung des künstlichen Pankreassaftes einen wesentlich anderen Vorgang zeigt, als die des Magensaftes, und dass daher nicht wohl daran gedacht werden kann, dass jene lediglich in einer während der Magenverdauung sich einstellenden Pepsinladung des Pankreas beruhe. Wunderbar bleibt es allerdings dabei, dass beide trotz der Verschiedenartigkeit ihrer Wirkungsweise doch durch einerlei Endresultate — durch das Auftreten der Peptone — charakterisirt werden.

Zwei Versuche, die ich bisher anstellte, um aus der Schleimhaut des Dünndarms Fermente durch Glycerinauszug zu gewinnen, haben mir bisher unsichere Resultate gegeben. Zum ersten Versuche würde der einfach zerkleinerte und dann ausgewaschene Darm eines Meerschweinchens benutzt, der nach mehrstündigem Verweilen in Glycerin ein sehr energisch diastatisch wirkendes Präparat lieferte, das jedoch weder auf Peptone reagirte noch Fibrin selbst nach längerer Einwirkung veränderte. In dem zweiten Falle liess ich durch den Dünndarm eines frischgetödteten Kaninchens etwa eine halbe Stunde lang einen Strom destillirten Wassers gehen, um alle etwa noch vorhandenen Reste des Pankreas-Secrets zu entfernen. Der hierauf sorgfältig zerkleinerte Darm gab selbst nach tagelangem Verweilen in Glycerin keinen diastatisch oder peptisch wirkenden Auszug. Es bleibt mir daher zweifelhaft, ob in dem ersten Falle nicht noch pankreatischer Saft vorhanden war.

Auch aus der frisch dem Körper entnommenen Kaninchenleber gelang es mir bisher nicht ein diastatisch wirkendes Ferment zu gewinnen.