

Zur Kenntniss der Verdauungsvorgänge im Dünndarm. II.

Von

F. Kutscher und J. Seemann.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Marburg.)

(Der Redaction zugegangen am 23. Mai 1902.)

In unserer ersten^{1) 2)} Mittheilung haben wir gezeigt, dass im Dünndarm des mit Fleisch gefütterten Hundes eine vollkommene d. h. bis zu biuretfreien Körpern führende Spaltung

1) Diese Zeitschr. Bd. XXXIV, S. 528.

2) Es ist unseren Versuchen, besonders dem Versuch II — siehe diese Zeitschrift, Bd. XXXIV, Seite 536 — der Vorwurf gemacht worden (Centralblatt f. Phys., Jahrg. 16, S. 58, Referat von H. Friedenthal), dass die Versuchsdauer eine viel zu kurze sei, um bezüglich der Resorption irgend welche Schlüsse zuzulassen. Dagegen ist zu erwidern, dass dieser Einwand dann Geltung hätte, wenn von Friedenthal bei längerer Versuchsdauer oder anderer Versuchsanordnung thatsächlich die krystallinischen Stoffe im Blute gefunden wären. Dieser Nachweis ist aber nicht erbracht. Im übrigen ist zu bemerken:

1. Die Steigerung der N-Ausscheidung ist schon 1 Stunde nach der Fütterung per os vorhanden; auch die bekannten unter Tappeiner's Leitung ausgeführten Resorptionsversuche (Zeitschr. f. Biologie, Bd. 33, S. 462 u. 475) haben kurze ($\frac{1}{4}$ —1, höchstens 2 Stunden) Versuchsdauer.

2. Die Blutumlaufgeschwindigkeit beträgt nach Vierordt für den Hund ungefähr 15 Secunden; also in 1 Stunde würde 240 Mal das Blut durch den Darm circuliren. Die von uns beabsichtigte Anreicherung kann natürlich nicht ins Ungemessene gehen; und es darf schon eine sehr starke Herabsetzung dieser Anzahl von Durchspülungen des Darmes mit Blut stattfinden, sie würde für die Erzielung des Maximums wohl immer noch ausreichen.

3. In der Darmwand, die wir in Versuch II schon ebenfalls untersucht haben, konnten wir die resorbirten krystallinischen Stoffe auch nicht finden, und dieser Befund ist ja durch die andern mitgetheilten diesbezüglichen Versuche vollkommen bestätigt.

des Nahrungseiweisses stattfinden kann. Weiter hatten wir versucht, über den Verbleib der verschiedenen im Darminhalt aufgefundenen krystallinischen Spaltungsprodukte Aufschluss zu erhalten. Da wir dieselben weder in der Darmwand noch jenseits derselben nachweisen konnten, mussten wir eine Umwandlung resp. Zersetzung in der Darmwand annehmen, welche die Endprodukte der Verdauung unserem Nachweis entzog.

Um zu erfahren, welche der beiden erwähnten Möglichkeiten die richtige ist, haben wir begonnen, die Extractivstoffe näher zu untersuchen, welche sich durch siedendes Wasser der Darmschleimhaut entziehen lassen. Man erhält die Extractivstoffe ohne Schwierigkeit frei von biuretgebender Substanz. Wandten wir zu ihrer Auftheilung die gleichen Methoden an, die wir bei der Zerlegung des Darminhaltes benutzten, so gelang es uns nicht, abgesehen von pikrinsaurem Kali, eine krystallinische Substanz daraus zu isoliren. Trennten wir durch Phosphorwolframsäure die Extractivstoffe in zwei grosse Fractionen und entfernten aus der durch Phosphorwolframsäure nicht abscheidbaren Fraction die Phosphorwolframsäure, so blieb nach dem Einengen auch nur ein nicht krystallisirender Syrup zurück. Liessen wir nunmehr auf denselben siedende verdünnte Schwefelsäure einwirken, dann gelang es uns leicht, nach Entfernung der Schwefelsäure und Einengen der Flüssigkeit, eine reichliche Krystallisation zu erhalten, die der mikroskopischen Untersuchung nach aus Leucin bestand. Danach scheinen sich also unter den Extractivstoffen des Darmes relativ einfache, biuretfreie Substanzen zu befinden, die bei ihrer Behandlung mit siedender Säure reichlich Leucin abspalten.

Dieser Befund spricht sehr für die von uns erwogene Möglichkeit, dass das von der Darmwand resorbirte Leucin und die übrigen Spaltungsprodukte der Eiweisskörper bereits in der Darmwand eine Verkuppelung mit anderen Körpern erfahren. Aus Mangel an Thieren mussten wir leider unsere Versuche abbrechen, doch behalten wir uns die weitere Untersuchung der Extractivstoffe der Darmwand vor.

Unsere weiteren Versuche befassen sich mit der physiologischen Bedeutung des proteolytischen Enzyms der Darmwand,

des Erepsins, dem von Cohnheim eine so grosse Rolle bei der völligen Aufspaltung der Eiweisskörper der Nahrung zugeschrieben wird. Herr Cohnheim hatte die Freundlichkeit, uns das Manuscript seiner in dieser Zeitschrift kürzlich erschienenen Abhandlung vor dem Druck zur Einsicht zu übersenden; wir sprechen ihm hierfür unsern Dank aus. Es ist uns möglich, eine Reihe von Fragen, deren Lösung Cohnheim von der Zukunft erwartet, bereits im Nachfolgenden zu beantworten.

I. Die Selbstverdauung der Darmwand.

Cohnheim wendet sich am Schlusse seiner ersten Mittheilung¹⁾ über das Erepsin gegen den Einwand, die Erepsinwirkung sei auf eine Stufe zu stellen mit der Wirkung des autolytischen Fermentes der Leber, Lunge und anderer Organe, da es nicht wie diese die Eiweisskörper der Gewebe spaltet, sondern nur auf die ersten Spaltungsprodukte der Eiweisskörper einwirke. Wie dem ist, lässt sich leicht durch einen Versuch entscheiden, und das war zunächst festzustellen. Wir wandten uns deswegen dem Studium der Selbstverdauung des Darmes zu.

Am 21. Januar 1902 wurde ein grosser, am Tage vorher um 2 Uhr und um 10 Uhr mit je 500 g Fleisch gefütterter, 30 kg schwerer Hund getödtet und ihm der Dünndarm mit Ausschluss des Duodenums entnommen. Nach dem Aufschneiden des Darms wurde die Schleimhaut auf das Sorgfältigste gereinigt und mit Wasser abgewaschen und darnach mit einem Scalpell abgeschabt. Eine Trockenbestimmung der abgeschabten Darmschleimhaut, mit 6,244 g derselben ausgeführt, ergab, dass sie, bei 110° C. bis zur Gewichtsconstanz getrocknet, 1,008 g hinterliessen. Das Gewicht des Restes der Darmschleimhaut, welcher der Selbstverdauung überlassen wurde, betrug 312,8 g, also 50,5 g Trockensubstanz. Zu diesem Zwecke wurde dieselbe in eine Flasche gebracht, mit 1 Liter Wasser aufgeschwemmt, reichlich mit Chloroform²⁾ versetzt, und das Ganze

1) Diese Zeitschr., Bd. XXXIII, S. 464.

2) Siehe hierzu die bekannte Arbeit Salkowski's in der deutsch. med. Wochenschrift, 1888, Nr. 16.

wohlverschlossen in einen auf 37° C. eingestellten Brutschrank gesetzt. Zunächst schien sich die Verdauungsflüssigkeit nicht zu verändern; sie blieb trübe, farblos, und die in ihr suspendirten feineren Partikel sedimentirten schwer; allmählich jedoch klärte sich die Flüssigkeit, während sie gleichzeitig einen tiefgelben Farbenton annahm. Am 18. März 1902 wurde die Verdauung abgebrochen. Eine kleine Probe der Verdauungsflüssigkeit wurde mit etwas Essigsäure versetzt, aufgeköcht und filtrirt. Das Filtrat gab weder Biuret noch Tryptophanreaction. Darnach wurde die Gesammtmenge mit Essigsäure angesäuert, aufgeköcht und filtrirt, der Filtrerrückstand wurde mehrmals ausgeköcht und sorgfältig nachgewaschen.

Die erhaltene Flüssigkeitsmasse wurde nunmehr auf 1000 ccm. gebracht. Davon hinterliessen 10 ccm., bei 110° C. zur Gewichtskonstanz getrocknet, 0,2666 g. Demnach waren also von den Bestandtheilen der Darmschleimhaut 26,66 g = 52,79% der Trockensubstanz in Lösung gegangen. Ferner wurde der Stickstoffgehalt der Verdauungsflüssigkeit bestimmt. Dazu wurden 10 ccm. nach Kjeldahl verascht, sie sättigten 22,7 ccm. $\frac{1}{10}$ Normaloxalsäure. Die gesammte Verdauungsflüssigkeit enthielt also 3,178 g Stickstoff. Das polarisirte Licht wurde von der Verdauungsflüssigkeit nach links abgelenkt; im Decimeterrohr bestimmt, betrug die Drehung — 0,30°. Um die verschiedenen Verdauungsprodukte zu isoliren, haben wir einen Gang der Untersuchung gewählt, der geeignet war, eine grössere Anzahl charakteristischer Verdauungsprodukte entweder quantitativ oder annähernd quantitativ zu bestimmen. Derselbe wird sich zweifellos auch zur Isolirung der bei der Selbstverdauung anderer Organe entstehenden Produkte, so wie in allen Fällen, wo es sich um das Verfolgen der Wirkung tryptischer Enzyme handelt, entweder direkt oder mit geringen Modificationen anwenden lassen. Unser Vorgehen war folgendes:

Isolirung der verschiedenen bei der Selbstverdauung des Darmes entstehenden Verdauungsprodukte.

Von der Verdauungsflüssigkeit wurden 100 ccm. mit überschüssigem Baryumcarbonat der Destillation unterworfen, das

übergetriebene Ammoniak sättigte 13,5 ccm. $\frac{1}{10}$ Normaloxalsäure. Demnach waren in der gesammten Verdauungsflüssigkeit 0,2295 g Ammoniak mit 0,1890 g N enthalten. Darauf wurde die ganze Verdauungsflüssigkeit mit kaltgesättigtem Barytwasser ausgefällt, die entstandene Fällung abgesaugt, der Niederschlag sorgfältig gewaschen. In dem Filtrat wurde der überschüssige Baryt durch Kohlensäure ausgefällt, dasselbe mit der zur Bestimmung des Ammoniaks destillirten Menge vereinigt, und nunmehr die Flüssigkeit nach Zufügung von Baryumcarbonat in offener Schale abgedampft, bis kein Ammoniak mehr entwich. Darauf wurde vom Baryumcarbonat abfiltrirt, das Baryumcarbonat sorgfältig nachgewaschen und die Flüssigkeit (entsprechend 960 ccm. der ursprünglichen Verdauungsflüssigkeit) auf 1000 ccm. gebracht. In 10 ccm. der Flüssigkeit wurde von Neuem eine Stickstoffbestimmung ausgeführt; dieselben sättigen 20,1 ccm. $\frac{1}{10}$ -Normaloxalsäure, die Gesamtflüssigkeit enthält also 2,931 g N. Aus der Differenz zwischen der ersten Stickstoffbestimmung und der letzten ergibt sich nach Abzug des im Ammoniak entwichenen Stickstoffs der im Baryt verbliebene Huminstickstoff.

Gesamt-N = 3,178	0,247
Rest-N = 2,931	$\text{NH}_3\text{-N} = 0,189$
<u>0,247</u>	<u>Humin-N = 0,058</u>

Nunmehr wurden die restirenden 970 ccm. = 932,3 ccm. der ursprünglichen Verdauungsflüssigkeit zum dünnen Syrup eingeengt und 48 Stunden in der Kälte sich selbst überlassen. Es krystallisirte reichlich Leucin und Tyrosin, welche abgesaugt wurden. Der Rückstand wurde auf der Filterplatte mit kaltem Wasser gewaschen, bis sich nichts mehr merklich löste. Das unreine Leucin löst sich während dieser Behandlung sehr schnell, während das Tyrosin kaum angegriffen wird und schon fast rein zurückbleibt. Um eventuell beigemengtes Baryumcarbonat zu entfernen, wurde das Tyrosin mit wenig verdünnter Essigsäure gewaschen, die Essigsäure durch Alkohol verdrängt, das Tyrosin getrocknet, gewogen und analysirt. Wir erhielten so 0,560 g Tyrosin, in der ganzen Flüssigkeit also 0,606 g

Tyrosin mit 0,0464 Stickstoff. Die Analyse lieferte nachstehende Werthe :

0,2804 Substanz sättigten 15,0 $\frac{1}{10}$ N-Oxalsäure = 7,489 % N.

0,2274 „ „ 12,65 $\frac{1}{10}$ N „ = 7,788 % N.

Das Filtrat vom Tyrosin, dem jedoch das letzte essigsäurehaltige Waschwasser nicht zugefügt war, wurde mit Salpetersäure schwach angesäuert und mit 10%igem Silbernitrat ausgefällt. Der Niederschlag, den wir erhielten, war beträchtlich. Er wurde nach 48 Stunden abfiltrirt. Diese Fällung wollen wir bezeichnen als

Fraction der Alloxurbasen.

In dieser Fällung finden sich bis auf geringe Reste die Alloxurbasen in Form ihrer Silbernitratverbindungen. Um sie weiter zu verarbeiten, schwemmt man am besten den Niederschlag in Ammoniak unter Zugabe von ammoniakalischer Silbernitratlösung auf und behandelt die in ihre Silberverbindungen übergeführten Alloxurbasen dann nach Krüger und Salomon.

Ausser den Alloxurbasen finden sich in dieser Fraction noch Substanzen, deren Silberverbindungen sowohl in überschüssigem Ammoniak wie in überschüssiger Salpetersäure leicht löslich sind. Wir haben bisher diese Fraction der Alloxurbasen noch nicht aufgetheilt.

Das Filtrat von dem durch Silbernitrat erzeugten ersten Niederschlag wurde nunmehr mit 10%iger Silbernitratlösung versetzt, bis eine Probe in gesättigtem Barytwasser sofort einen braunen Niederschlag gab. Darauf wurde der Flüssigkeit vorsichtig Barytwasser zugefügt, bis ein Tropfen der über dem sich bildenden Niederschlage befindlichen Flüssigkeit, mit einem Tropfen ammoniakalischer Silberlösung¹⁾ auf einer Glasplatte zusammengebracht, an der Berührungsstelle nur eine ganz schwache Trübung erkennen lässt. In den auf diese

1) Dieselbe wird bereitet, indem man 2 ccm. 10%ige Silbernitratlösung tropfenweise mit 10%iger Ammoniaklösung versetzt, bis gerade das abgeschiedene Silberoxyd sich gelöst hat. Danach fügt man noch einen Tropfen Ammoniaklösung dazu.

Weise erzeugten Niederschlag müssen annähernd quantitativ hineingehen die Silberverbindungen des Histidins, der Glutaminsäure, Asparaginsäure, des Thymins, des Uracils und des Cytosins. Diese Fraction sei als Histidinfraction bezeichnet.

Die Histidinfraction.

Der voluminöse Niederschlag der Histidinfraction wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen, in verdünnter Schwefelsäure gelöst und das Silber durch Baryumsulfid entfernt. Vom Silbersulfid wurde abfiltrirt, das Filtrat durch einige Tropfen Kupfersulfatlösung vom überschüssigen Schwefelwasserstoff befreit und nach Zugabe von Schwefelsäure mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Von der Phosphorwolframsäurefällung wurde abgesaugt; der erhaltene Niederschlag war sehr gering; da sich auf keinen Fall aus demselben genügend Histidin hätte gewinnen lassen, um es identificiren zu können, haben wir nur den Stickstoff darin bestimmt. Der Niederschlag wurde in verdünnter Natronlauge gelöst und auf 250 ccm. aufgefüllt; davon sättigten 20 ccm., nach Kjeldahl verascht, 3,5 ccm. $\frac{1}{10}$ N-Oxalsäure. Die 250 ccm. enthielten also 0,0413 g Stickstoff, auf die Gesamt-Verdauungsflüssigkeit eingerechnet, ergaben sich also 0,0424 g N aus diesem Niederschlag.¹⁾

Aus dem Filtrat von der Phosphorwolframsäurefällung wurde die Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure durch Baryt, der Baryt durch Kohlensäure entfernt. Die von den verschiedenen Niederschlägen erhaltene Flüssigkeit wurde auf ein geringes Volumen gebracht. Es krystallisirte aus derselben schnell eine Substanz, die ihren Reactionen nach als Thymin resp. Uracil anzusprechen war. Sie sublimirte, wenn auch schwierig, beim Erhitzen im trockenen Reagensglase, gegen Lackmus reagirte sie neutral, mit Silbernitrat und etwas Ammoniak versetzt gab sie einen weissen, gallertigen Niederschlag, der sich leicht sowohl in Ammoniak wie in Salpetersäure löste. Bei der Analyse wurden für Stickstoff folgende Zahlen gewonnen:

¹⁾ Ist die Phosphorwolframsäurefällung eine genügende, so hat es natürlich keine Schwierigkeit, daraus das Histidin nach dem Verfahren von Kossel und Kutscher darzustellen. Siehe hierzu Kutscher's Abhandlung, diese Zeitschr., Bd. XXXII, S. 68.

0,1634 Substanz nach Kjeldahl verascht sättigten 27,3 $\frac{1}{10}$ N-Oxalsäure.

Gefunden :	Berechnet :
23,39 % N.	für Uracil 25,05 % N.
	für Thymin 22,22 % N.

Gefunden von dem einen von uns (Kutschner) in der entsprechenden Substanz der selbstverdauten Thymus 23,40 % N.

Die Ausbeute betrug 0,4250 g, also auf die gesammte Flüssigkeit berechnet 0,4307 g mit 0,1007 g N.

Die Mutterlauge von dieser Substanz enthielt reichliche Mengen von Baryt in Lösung und reagirte gegen Lackmus stark alkalisch. Aus derselben wurde mit Schwefelsäure der Baryt genau ausgefällt. Die Reaction der vom Baryumsulfat abfiltrirten Flüssigkeit war deutlich sauer geworden. Um eventuell vorhandene Glutaminsäure als schwer lösliches glutaminsaures Zink abzuschneiden, wurde die Flüssigkeit mit etwas überschüssigem Zinkoxyd gekocht und auf ein geringes Volumen gebracht. In 48 Stunden hatte sich eine kleine Menge undeutlich krystallinischer Substanz abgesetzt; dieselbe wurde abgesaugt, in verdünnter Essigsäure gelöst und Schwefelwasserstoff eingeleitet. Nach Entfernung des Schwefelzinks wurde die Flüssigkeit zur Vertreibung der Essigsäure auf dem Wasserbade abgedampft. Es hinterblieb schliesslich ein sauer reagirender Syrup, der nach Zugabe von Salzsäure krystallisirte. Die Krystallmenge war aber zur Analyse zu gering, sie reichte nicht einmal für eine Schmelzpunktbestimmung. Wir müssen demnach unentschieden lassen, ob in unserm Falle Glutaminsäure gebildet wurde oder nicht.

Um die Asparaginsäure zu gewinnen, wurde die Mutterlauge von der zur Ausscheidung gelangten Zinkverbindung durch Schwefelwasserstoff vom Zink befreit, der Schwefelwasserstoff verjagt und darnach die Flüssigkeit mit überschüssigem Kupfercarbonat gekocht. Die vom überschüssigen Kupfercarbonat siedend heiss abfiltrirte Flüssigkeit setzte nach der Concentration ein sehr schwer lösliches Kupfersalz ab. Dasselbe zeigte nach dem Umkrystallisiren die charakteristischen Krystalle des asparaginsäuren Kupfers. Bei der Analyse gab das Präparat folgende Zahlen :

0,0864 g lufttrockene Substanz hinterlassen geglüht 0,0248 CuO.	
Gefunden :	Berechnet für $C_4H_5NO_4Cu + 4\frac{1}{2}H_2O$
22,91 % Cu	23,02 % Cu.

Die erhaltene Menge asparaginsauren Kupfers betrug 0,1096 g, also auf die Gesamtflüssigkeit berechnet 0,1176 g mit 0,0060 g N.

Die Mutterlauge des asparaginsauren Kupfers enthält zum Mindesten noch zwei weitere organische Säuren, von denen sich die eine unschwer nach Entfernung des Kupfers als Zinksalz isoliren lässt.¹⁾

Argininfraction.

Das Filtrat der Histidinfraction wurde zur Abscheidung des Arginins mit Baryt gesättigt, der entstehende Silberniederschlag abgesaugt, gewaschen, in verdünnter Schwefelsäure gelöst und mit Baryumsulfid zersetzt. Vom Silbersulfid u. s. w. wurde abfiltrirt, der überschüssige Schwefelwasserstoff aus der erhaltenen Flüssigkeit durch Kohlensäure ausgetrieben, die Schwefelsäure aus ihr durch Baryt, dieser wieder mit Kohlensäure entfernt. Die so gewonnene Flüssigkeit hinterliess beim Einengen eine geringe Menge eines alkalisch reagirenden Syrups; derselbe wurde mit Salpetersäure neutralisirt, krystallisirte aber nicht. Er wurde daher mit Wasser aufgenommen und mit kohlenurem Kupfer gekocht. Es zeigte sich jetzt, dass in der Flüssigkeit eine Kupfer stark reducirende Substanz vorhanden war. Dieselbe liess sich durch Kochen mit Thierkohle entfernen. Aber auch die derartig gereinigte Flüssigkeit setzte nach dem Einengen keine Krystalle ab. Sie wurde nunmehr mit Schwefelsäure stark angesäuert und mit Phosphorwolframsäure gefällt. Die aus der Phosphorwolframsäureverbindung in Freiheit gesetzte Base war aber jedenfalls kein Arginin, da sich aus ihr auf keine Weise die für das Arginin charakteristischen Salze darstellen liessen.

Lysinfraction.

Das Filtrat des eben besprochenen Silberniederschlages wurde in der Kälte durch überschüssige Salzsäure und Schwefelsäure vom Silber und Baryt befreit, darauf mit Phosphor-

1) Ich behalte mir ausdrücklich vor, über diese Säuren, die den noch ungelösten Rest der Histidinfraction bilden, und die auch als Spaltungsprodukte der Eiweisskörper durch siedende Säuren, sowie Trypsin zu erhalten sind, weiter zu arbeiten. Kutscher.

wolframsäure ausgefällt. Die Phosphorwolframsäurefällung wurde nach Kossel auf Lysin verarbeitet; wir erhielten unschwer 2,2650 g Lysinpikrat, entsprechend 0,8818 g Lysin, in der gesammten Flüssigkeit waren also enthalten gewesen 0,9459 g Lysin mit 0,1856 g N. Wir bemerken hier, dass es unumgänglich nothwendig ist, um ein analysenreines Präparat zu erhalten, dasselbe vorher mit Thierkohle energisch zu behandeln. Durch die Thierkohle wird namentlich das Kaliumpikrat, das man auf eine andere Weise kaum los werden kann, fast quantitativ zurückgehalten, während das Lysinpikrat nicht wesentlich von der Thierkohle aufgenommen wird.

Zur Analyse wurden 0,1974 g Substanz in 10 ccm. Wasser gelöst, mit Zinkstaub, 5 ccm. concentrirter Schwefelsäure und 5 ccm. absolutem Alkohol reducirt und darnach nach Kjeldahl verascht; sie sättigten 25,35 ccm. $\frac{1}{10}$ N-Oxalsäure.¹⁾

Gefunden :	Berechnet :
17,78 % N	18,67 % N.

Tabelle I.

Gesamtstickstoff der Verdauungsflüssigkeit 3,178 g N.
Davon entfallen auf:

	Absolut	In Proc. des Gesamt-N
Ammoniak	0,1890	5,95
Huminsubstanzen . . .	0,0580	1,83
Tyrosin	0,0464	1,46
Histidin	0,0424	1,33
Glutaminsäure	?	?
Asparaginsäure	0,0060	0,19
Uracil und Thymin . . .	0,1007	3,17
Arginin	—	—
Lysin	0,1856	5,84
	0,6281	19,77 %

Die vorstehende Tabelle I gibt eine Uebersicht über die Vertheilung des Stickstoffs auf die erhaltenen Spaltungsprodukte.

1) Wegen des zu geringen gefundenen N-Werthes siehe Henderson. Diese Zeitschr., Bd. XXIX, S. 322.

Das Resultat unseres Versuches ist durchaus unseren theoretischen Ueberlegungen entsprechend. Es hat sich auch an der todten Darmwand eine lebhafteste Selbstverdauung gezeigt. Es sind mehr als 50% der Trockensubstanz in Lösung gegangen, während die präformirt bestehenden Extractivstoffe nur einen geringen Betrag ausmachen. Die Annahme Cohnheim's, dass die Selbstverdauung für die Erepsinwirkung nicht in Betracht kommt, erscheint also als nicht richtig.

Auffällig ist die grosse Aehnlichkeit, welche die Selbstverdauung der Thymus und der Darmschleimhaut erkennen lassen. Hier wie dort findet sich besonders reichlich Ammoniak und Lysin, dagegen fehlt das Arginin; ähnlich verhält sich die Selbstverdauung der pneumonischen Lunge.¹⁾ Ebenso erweisen sich die aus den Nucleinsäuren entstehenden Verdauungsprodukte der Analyse nach als identisch.

Es liegt daher nahe, das in der Darmschleimhaut und in der Thymus nachweisbare Enzym auf dieselbe Quelle, nämlich die Leucocyten, zurückzuführen. Damit wäre die Frage eröffnet, ob das von Cohnheim aus der Darmschleimhaut gewonnene proteolytische Enzym nicht überhaupt nur ein Kunstprodukt ist, das den geschädigten Leucocyten der Darmwand entstammt; zumal von Cohnheim bisher nicht der Nachweis versucht worden ist, ob die Darmschleimhaut des lebenden Thieres «Erepsin» zu liefern vermag. Diese Frage haben wir in nachfolgenden Versuchen beantwortet.

II. Das proteolytische Enzym des Dünndarms.

Nachdem wir bereits in unserer vorigen Arbeit den Beweis geliefert haben, dass das Erepsin unmöglich in der Darmwand thätig sein kann, musste man logischer Weise eine Secretion des Erepsins in das Darmlumen annehmen, und wir durften erwarten, es im Dünndarmsecret, das eine Thiry-Vella'sche Fistel liefert, nachweisen zu können. Herr Professor Enderlen hatte die Freundlichkeit, für uns einen Hund in der gewünschten Weise zu operiren. Es ist uns dadurch

¹⁾ F. Müller, Verhandl. d. naturhistor. Ges. Basel, Bd. 13, S. 308.

gelungen, rasch und schnell die vielfach ventilirte Frage, ob der Dünndarm ein proteolytisches Enzym abzusondern vermag oder nicht, wie wir glauben, endgültig in bejahendem Sinne zu beantworten. Herrn Professor Enderlen, dem für die glatte Erledigung unserer Arbeit ein wesentliches Verdienst zukommt, sprechen wir daher unsern besten Dank aus.

Der operirte Hund war ein Foxterrier von 14 kg Körpergewicht. Die Operation wurde am 3. Februar 1902 in der Weise ausgeführt, dass nach Eröffnung der Bauchhöhle ungefähr in der Mitte des Dünndarms eine Schlinge von 25 cm. Länge ausgeschaltet wurde. Das eine Ende der Schlinge wurde geschlossen und in die Bauchhöhle versenkt, das zweite offene Ende in die Bauchwand eingenäht.

Das Thier ertrug die Operation sehr gut und erholte sich von derselben schnell wieder.

In einigen Vorversuchen überzeugten wir uns zunächst über den Verlauf, den die Secretion nach der Fütterung zeigte. Es stellte sich dabei heraus, dass die ausgeschaltete Darmschlinge für gewöhnlich nur eine minimale Menge von Secret aus der Fistel entleerte. Erst vier Stunden nach der Fütterung wurde die Secretion lebhafter, um nach weiteren sechs Stunden wieder auf ein Minimum abzusinken. Zum Auffangen des Saftes benutzten wir eine weithalsige Flasche, in deren Hals ein Trichter eingesenkt war. Die Flasche wurde dem Thiere mittelst Ledergurtes um den Unterleib derart befestigt, dass die Fistelöffnung vom Trichterrand umschlossen wurde.

Das Secret stellte eine völlig klare, gelbliche, gut filtrirbare, gegen Lackmus stark alkalisch reagirende Flüssigkeit dar, in der immer einige gallertige Flocken aufgeschwemmt waren. Chloroform war dem Darmsaft gegenüber nicht ganz indifferent, da sich derselbe unter seiner Einwirkung trübte. Die gleiche Erscheinung trat in verstärktem Maasse ein, als wir das Chloroform durch Thymol zu ersetzen versuchten. Wir haben daher in unseren Hauptversuchen doch das Chloroform benutzt, um den Darmsaft steril zu halten. Aus einer Reihe von Versuchen seien folgende mitgetheilt.

Versuch I.

Am 5. März wurde der Hund um 7 Uhr früh in gewöhnlicher Weise mit Abfällen aus dem Schlachthaus und Brotsuppe gefüttert. Der secernirte Darmsaft wurde von 10—1 Uhr über Chloroform aufgefangen. Seine Menge betrug 7 ccm. Derselbe wurde in folgender Weise verwandt, wobei natürlich alle Proben bis zur Beendigung der Versuche gut verschlossen bei 37° im Brutschrank gehalten wurden.

1. 20 ccm. einer 4%igen Deuteroalbumoselösung¹⁾ wurden mit 2 ccm. des Darmsaftes und 1 ccm. Chloroform versetzt. Das Gemenge, sofort im Decimeterrohr polarisirt,²⁾ drehte — 2,23°; nach 24 Stunden, am 6. März, betrug die Drehung — 2,01°; am 17. März — 1,86°, am 20. März — 1,87°.

2. 2 ccm. Darmsaft wurden mit 20 ccm. Wasser verdünnt und eine Flocke ausgekochtes Fibrin, sowie 1 ccm. Chloroform dazu gegeben. Am 20. März wurde vom Fibrin abfiltrirt, das Filtrat sorgfältig auscoagulirt und nach erneuter Filtration mit Hilfe der Biuret- sowie der Millon'schen Reaction untersucht. Beide Proben fielen positiv aus.

Zur Kontrolle war eine gleiche Fibrinflocke, die ohne Darmsaft in 20 ccm. Wasser und 1 ccm. Chloroform gebracht war, genau ebenso wie die vorstehende behandelt. Millon'sche und Biuretreaction fielen hier vollkommen negativ aus.

3. 20 ccm. einer 2%igen Rohrzuckerlösung wurden mit 1 ccm. Darmsaft und 1 ccm. Chloroform versetzt. Am 6. März gab die Probe starke Trommer'sche Reaction.

4. 20 ccm. eines 1%igen Stärkeklisters wurden mit 1 ccm. Darmsaft und 1 ccm. Chloroform versetzt. Am 6. März gab die Probe starke Trommer'sche Reaction.

¹⁾ Die Deuteroalbumose war nach den Angaben Folin's (Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 152) dargestellt worden und entsprach allen Anforderungen, die Neumeister und Folin an eine Deuteroalbumose stellen. Wir benutzten zu allen unseren Versuchen dasselbe Präparat.

²⁾ Zum Polarisiren wurde der grosse Lippich'sche Polarisationsapparat mit 3teiligem Gesichtsfeld verwendet. Die mitgetheilten Zahlen sind Mittel aus mindestens 10 gut übereinstimmenden Ablesungen. Als Beleuchtungsquelle diente ein Argandbrenner.

Versuch II.

Am 6. März wurde der Hund um 7¹/₄ Uhr wie im vorigen Versuch gefüttert. Um 10 Uhr Vormittags erhielt er 500 ccm. entrahmte Milch. Von 11 Uhr Vormittags bis 5 Uhr Nachmittags wurden 16 ccm. Secret über Chloroform aufgefangen, die wie folgt verwandt wurden.

1. 20 ccm. 4^o/oige Deuteroalbumoselösung wurden mit 6 ccm. Darmsaft und 1 ccm. Chloroform versetzt. Das Gemenge lenkt im Decimeterrohr das polarisirte Licht um — 1,76^o ab. Am 7. März, nach 24 Stunden ist die Drehung auf — 1,29^o, am 18. März auf — 0,98^o abgesunken. Am 20. März wird die gleiche Drehung festgestellt.

2. Eine ausgekochte Fibrinflocke wird in ein Gemenge von 20 ccm. Wasser, 6 ccm. Darmsaft und 1 ccm. Chloroform gebracht. Am 20. März zeigte sich die Fibrinflocke stark angegriffen. Das von den ungelösten Resten befreite Filtrat gab nach Entfernung der gelösten coagulablen Eiweissstoffe deutliche Biuret- und Millon'sche Reaction.

Zur Kontrolle wurde eine ebensolche Fibrinflocke in 20 ccm. Wasser, dem 1 ccm. Chloroform zugegeben war, gehalten. Sie zeigte am 20. März nicht die geringste Veränderung und gab keine Spur von Biuret- oder Millon'scher Reaction.

3. und 4. Eine 2^o/oige Rohrzuckerlösung gab unter Einwirkung von 1 ccm. Darmsaft in 24 Stunden eine stark reducirende Lösung. Ebenso waren 10 ccm. 1^o/oiger Stärkekleister binnen 24 Stunden durch 2 ccm. Darmsaft in eine stark reducirende Lösung verwandelt.

Versuch III.

Für diesen Versuch sammelten wir in der üblichen Weise an drei Tagen das Secret, indem wir es von 11—6 Uhr aufingen, nachdem der Hund um 7¹/₄ Uhr früh gefüttert war, und zwar erhielten wir

am 13. März 15 ccm. Secret
 » 14. » 13 » »
 » 15. » 15 » »

Dieser Saft wurde gemischt bis zum 16. März im Eisschrank aufgehoben; an diesem Tage wurden mit dem Gemenge folgende Versuche angestellt:

1. 20 ccm. 4%ige Deuteroalbumoselösung werden mit 6 ccm. Darmsaft und 1 ccm. Chloroform versetzt.

Das Gemenge dreht das polarisirte Licht — 1,86°, am 17. März, nach 24 Stunden — 1,32°, am 19. März — 1,21°, am 21. März — 1,22°.

2. Eine ausgekochte Fibrinflocke wird in ein Gemenge von 20 ccm. Wasser, 6 ccm. Darmsaft und 1 ccm. Chloroform gebracht. Am 21. März ist die Fibrinflocke zu einem grossen Theile gelöst. Von den ungelösten Resten wird abfiltrirt und das gelöste Eiweiss durch Coagulation entfernt; das Filtrat gibt starke Biuret- und Millon'sche Reaction.

Die zur Kontrolle in Chloroformwasser gehaltene Flocke war unverändert; das Filtrat gibt nicht die geringste Biuret- oder Millon'sche Reaction.

3. 20 ccm. 2%ige Rohrzuckerlösung, mit 2 ccm. Darmsaft und 1 ccm. Chloroform versetzt, gaben nach 24 Stunden starken Trommer.

4. 20 ccm. 1%iger Stärkekleister werden mit 2 ccm. Darmsaft und 1 ccm. Chloroform versetzt. Nach 24 Stunden starker Trommer.

In vorstehenden Versuchen interessirt uns hauptsächlich die Wirkung des Darmsaftes auf die Eiweisskörper. Nach denselben macht sich eine langsame, aber deutliche Einwirkung des Darmsaftes auf Fibrin bemerkbar, welches durch denselben zum Theil in nicht coagulable, biuretgebende Körper übergeführt wird. Diese langsame Wirkung des Darmsaftes ist zweifellos die Ursache, weshalb ihm bald eine proteolytische Wirkung zugeschrieben, bald wieder abgesprochen wird.¹⁾ Setzt man die Versuche jedoch, wie wir es gethan haben, genügend lange fort, so wird die eiweisslösende Eigenschaft des reinen Darmsaftes für Fibrin sicher nachweisbar.

¹⁾ Eine ausführliche Zusammenstellung der Litteratur findet sich bei G. Bastianelli, Die physiologische Bedeutung des Darmsaftes. Moleschott's Unters. z. Naturlehre, Bd. 14, S. 138, und bei Neumeister, Lehrbuch der physiolog. Chemie, 2. Aufl., S. 185.

Tabelle II.

Ver- such		Linksdrehung		Linksdrehung am Schluss	
		sofort	nach 24 Stunden		2-3 Tage später
I	20 ccm. Deuteroalb.	} 2,23	2,01	1,86	1,86
	2 > Darmsaft				
	1 > Chloroform				
II	20 ccm. Deuteroalb.	} 1,76	1,29	0,98	0,99
	6 > Darmsaft				
	1 > Choroform				
III	20 ccm. Deuteroalb.	} 1,86	1,32	1,21	1,22
	6 > Darmsaft				
	1 > Chloroform				

Schnell und leicht dagegen ist mit Hilfe des polarisirten Lichtes die Wirkung des Darmsaftes auf Deuteroalbumose nachweisbar.¹⁾ Nun kommt allerdings dem Darmsaft selbst das Vermögen zu, das polarisirte Licht nach links abzulenken; der im Versuch III gesammelte unverdünnte Saft drehte $-0,36^\circ$.

Um zu sehen, ob die Abnahme der Linksdrehung, die wir in unseren Versuchen beobachten konnten, lediglich durch Veränderungen bedingt sei, welche die Deuteroalbumose erleidet oder nicht, stellten wir folgenden Versuch an:

Am 8. III. wurde der Hund wie gewöhnlich um 7 Uhr gefüttert, von 12-3 Uhr wurden von ihm 10 ccm. Darmsaft geliefert. Dieselben wurden mit 15 ccm. Wasser verdünnt und ihre Drehung bestimmt. Im Decimeterrohr betrug dieselbe $-0,13^\circ$. Am 17. III., als wir wieder die Drehung bestimmten,

¹⁾ Als erster hat die Veränderung der Drehung zum Nachweis der Wirkung proteolytischer Enzyme benutzt De Bary (Medic.-chem. Unters. von Hoppe-Seyler, Berlin, 1866-71, S. 76). In sehr ausgedehnter Weise haben dann Schütz (diese Zeitschrift, Bd. IX, S. 577) und ferner Gürber (Festschr. d. phys. med. Gesellsch., Würzburg, 1899) von diesem Hilfsmittel in wichtigen Arbeiten Gebrauch gemacht. In letzter Zeit haben Schütz und Huppert (Pflüg. Arch., Bd. 80, S. 470) noch einmal die Pepsinwirkung durch polarimetrische Bestimmungen studirt.

lesen wir ab —0,14. Sie war also unverändert geblieben. Darnach ist die Drehungsabnahme in unseren Versuchen nur durch die Zersetzung der Deuteroalbumose hervorgerufen. In keinem Versuche gelang es uns jedoch, die Deuteroalbumose vollkommen zu spalten; alle Proben gaben nach Entfernung der coagulablen Eiweisskörper, auch nachdem das Constantbleiben der Drehung die Beendigung der Verdauung angezeigt hatte, stets starke Biuretreaction.

Um festzustellen, wie viel an Deuteroalbumose im günstigen Fall durch den Darmsaft zersetzt werden kann, benutzten wir die Verdauungsflüssigkeit aus Versuch II, weil die Beobachtung der Drehung hier die stärkste Zersetzung der Deuteroalbumose erkennen liess.

Zunächst wurde ein Theil der unveränderten 4%igen Deuteroalbumoselösung auf das Hundertfache verdünnt und in eine Bürette gebracht. Aus dieser liessen wir die Flüssigkeit langsam tropfen in eins der bekannten Glaskästchen mit planparallelen Wänden, wie sie zu Blutuntersuchungen gebraucht werden. In diesem befanden sich 10 ccm. einer 15%igen Natronlauge, in der etwas CuO aufgeschwemmt war. Wir brauchten im Mittel 0,5 ccm. der verdünnten Deuteroalbumoselösung, um einen deutlichen röthlichen Farbenton in der Lauge hervorzurufen, wenn wir gegen den Längsdurchmesser des Kästchens sahen.

Darnach wurde ein gemessener Theil der verdauten Deuteroalbumoselösung mit dem gleichen Volumen gesättigter Kochsalzlösung versetzt, mit einem Tropfen Essigsäure angesäuert und durch Erhitzen das Eiweiss auscoagulirt. Vom abgeschiedenen Eiweiss wurde abfiltrirt und ein Theil des Filtrates aufs 40fache verdünnt, so dass sein Gehalt an Deuteroalbumose demjenigen im Vorversuche gleich gewesen wäre, vorausgesetzt, es hätte eine Verdauung der Albumose nicht stattgefunden. Im Uebrigen verfahren wir wie im Vorversuche. Wir brauchten zum Hervorrufen der Biuretreaction im Mittel 0,9 ccm. der verdauten und verdünnten Deuteroalbumoselösung. Es waren also, rechnen wir die gesammte biuretgebende Substanz in diesem Versuch als Deuteroalbumose,

$\frac{4}{9}$ der ursprünglichen Menge verdaut; nach der Abnahme der Drehung wären es $\frac{77}{176} = 0,447$ gewesen ($\frac{4}{9} = 0,444 \dots$).

Um Einiges über die Spaltungsprodukte zu erfahren, in welche die Deuteroalbumose in diesen Verdauungsversuchen zerfallen war, vereinigten wir die Hauptmassen der Verdauungsflüssigkeiten von Versuch II und III und fällten dieselben nach Ansäuren mit Schwefelsäure durch Phosphorwolframsäure aus; wir verarbeiteten nur das Filtrat der Fällung. Dasselbe wurde von Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure durch Baryt befreit, der überschüssige Baryt durch Schwefelsäure genau entfernt. Darauf wurde es eingeengt. Es schieden sich sehr bald Krystallmassen ab, die unter dem Mikroskop typische Leucinknollen und Tyrosinbüschel erkennen liessen.

Nach 24 Stunden wurden sie wieder mit Wasser aufgenommen, dabei blieben die schwer löslichen Tyrosinkrystalle zurück. Dieselben wurden von der Mutterlauge abgesaugt. Sie gaben stark die Millon'sche Reaction; zur Analyse reichte ihre Menge nicht aus.

Ist die Drehungsabnahme abhängig von der Enzymmenge?

In zwei Versuchen haben wir das Verhältniss der Drehungsabnahme zu der Enzymmenge untersucht.

In dem einen Versuch benutzten wir den am 8. III. aufgefangenen, der Selbstverdauung überlassenen Darmsaft, den wir am 19. III. mit dem Reste der am 13.—15. III. gesammelten Darmsäfte vereinigten. Leider verloren wir eine unbestimmbare Menge des Darmsaftes, so dass wir gezwungen waren, denselben mit Wasser zu verdünnen; den Grad der Verdünnung können wir nicht genau angeben. Der so verdünnte Darmsaft selbst drehte das polarisirte Licht um $-0,16^\circ$. Es wurden davon a) 2 ccm., b) 4 ccm., c) 9 ccm. mit je 10 ccm. 4%iger Deuteroalbumoselösung versetzt und jede Probe mit Wasser auf 20 ccm. aufgefüllt. Es wurde sofort und nachdem die Flüssigkeiten 24 Stunden bei 37° gehalten waren, ihre Drehung bestimmt. Die Zahlen ergibt die folgende Tabelle III.

Tabelle III.

Ver- such	1. Enzym- menge = E	Drehung			5. Differenz 2.—3.	6. K · \sqrt{E}
		2. sofort	3. nach 24 Std.	4. nach 48 Std.		
a	2	— 1,25	— 1,18	— 1,18	0,07	5 · 1,4 = 7
b	4	— 1,25	— 1,14	— 1,13	0,11	5 · 2 = 10
c	9	— 1,29	— 1,14	— 1,12	0,15	5 · 3 = 15

Für den anderen Versuch fingen wir am 24. III. in der üblichen Weise 12 ccm. Darmsaft auf. Derselbe wurde mit Wasser auf 40 ccm. aufgefüllt; davon wurden a) 2 ccm., b) 4 ccm., c) 9 ccm., d) 16 ccm. mit je 10 ccm. Deuteroalbumoselösung versetzt und mit Wasser auf 30 ccm. gebracht. Die folgende Tabelle IV zeigt die Veränderungen der Drehung der 24 Stunden bei 37° C. gehaltenen Flüssigkeiten. Als Desinfizienz diente in diesem Falle Thymol. Mangel an Deuteroalbumose hinderte uns, zahlreichere Versuche anzustellen.

Tabelle IV.

Ver- such	1. Enzym- menge = E	Drehung		4. Differenz	5. K · \sqrt{E}
		2. sofort	3. nach 24 Stunden		
a	2	— 0,83	0,70	0,13	10 · 1,4 = 14
b	4	— 0,93	0,74	0,19	10 · 2 = 20
c	9	— 0,96	0,66	0,30	10 · 3 = 30
d	16	— 0,98	nicht polarisierbar, weil trübe geworden.	—	—

Die Zahlen dieser beiden Tabellen lassen das Gesetz erkennen, dass die Differenzen der anfänglichen Drehung und der nach 24 Stunden beobachteten sich verhalten wie die Quadratwurzeln der Enzymmengen.

Da nun sonst für Enzymwirkungen dieses Gesetz gilt, würde folgen, dass die Abnahme der Drehung proportional geht mit der Enzymwirkung überhaupt, in unserem Falle ge-

messen an der Zersetzung der Deuteroalbumose. Dafür, dass die Drehungsabnahme proportional der Deuteroalbumosezer- setzung erfolgt, sprechen auch die mit Hülfe der Biuretreaction ausgeführten Kontrollbestimmungen.

Im Versuch II (s. S. 438) war nach der Drehung eine Zersetzung von $\frac{77}{176} = 0,447$, nach der Abnahme der Biuret- reaction eine solche von $\frac{4}{9} = 0,444 \dots$ erfolgt.

Im Versuch III, wo wir eine gleiche Bestimmung mit der so weit als möglich verdauten Flüssigkeit machten, brauchten wir 0,75 ccm. der wie im Versuch II behandelten Flüssigkeit, um deutliche Biuretreaction zu erhalten. Für diesen Versuch gestalten sich die Zahlen für die Zersetzung der Deuteroalbumose also folgendermassen:

$$\text{nach der Biuretreaction} \dots \frac{50}{75} = \frac{1}{3} = 0,333 \dots,$$

$$\text{nach der Drehungsabnahme} \frac{64}{186} = \frac{32}{93} = 0,344.$$

Selbstverständlich ist das Gesetz nur gültig, soweit die Kleinheit der Zahlen und Differenzen die Abstraction eines solchen überhaupt zulassen.

III. Ist es das Erepsin oder das Trypsin, welches die grössere Wirksamkeit im Darm hat?

Von Cohnheim ist in seiner ersten Arbeit dem proteolytischen Enzym des Dünndarmes die Aufgabe zugeschrieben worden, die Eiweisskörper im Dünndarm in Leucin, Tyrosin und andere biuretfreie Endprodukte zu spalten, nachdem dieselben vorher vom Pepsin und Trypsin in Albumosen und Peptone übergeführt worden sind. Ueber das Pepton hinaus sollte das Trypsin die Eiweisskörper nicht zerlegen. Wir haben gegen diese Ausführungen Cohnheim's Bedenken erhoben, indem wir uns auf Versuche, die von anderer Seite veröffentlicht waren, stützen konnten. In seiner letzten Arbeit scheint nun Cohnheim allerdings auch dem Trypsin einige Bedeutung bei der weitgehenden Spaltung, welche die Eiweisskörper im

Dünndarm erfahren, zuzubilligen und er erwartet von der Zukunft die Entscheidung, ob das Trypsin oder das Erepsin den grössten Antheil an der Spaltung der Eiweisskörper hat.

Annähernd können wir nun schon aus unseren Reagensglasversuchen entnehmen, wie viel Deuteroalbumose von der in 24 Stunden secernirten Secretmenge des Darmes innerhalb dieser Zeit beim Hunde zersetzt wird. Nehmen wir den Versuch III, bei dem in 24 Stunden die Zersetzung am stärksten war, als Grundlage. Es hatten 6 ccm. Darmsaft (an den Versuchstagen waren durchschnittlich 15 ccm. Darmsaft abge-sondert) in 20 ccm. 4%iger Deuteroalbumoselösung die Drehung von $1,86^\circ$ auf $1,32^\circ$ herabgebracht, also eine Abnahme von $0,54^\circ$ bewirkt. Die Drehungsabnahme verläuft aber proportional der Zersetzung der Deuteroalbumose, also waren in dem Versuch zersetzt $\frac{0,8 \cdot 0,54}{1,86}$ g Deuteroalbumose, die in 24 Stunden

secernirte Menge hätte zersetzt $\frac{0,8 \cdot 0,54 \cdot 15}{1,86 \cdot 6}$ g. Wir hatten

eine Schlinge von 25 cm. ausgeschaltet, also würde ein Meter Darm durch sein Secret zersetzen können $\frac{0,8 \cdot 0,54 \cdot 15 \cdot 4}{1,86 \cdot 6}$ g

= 2,32 g Deuteroalbumose. Rechnen wir nach Schenck und Gürber (Leitfaden, 2. Aufl., S. 102) die Darmlänge des Hundes gleich der 5fachen Körperlänge, gemessen vom Maul zum After, so erhalten wir für unsern Hund als Darmlänge $5 \times 0,73$ m = 3,65 m. Er würde also in 24 Stunden im günstigsten Falle 8,4 g Deuteroalbumose mit einem N-Gehalt von 1,428 g zu zersetzen im Stande sein. Unser Hund frass auf einmal 1 kg Fleisch mit 34 g N.

Nach unseren Reagensglasversuchen vermag also der Darmsaft, überall die günstigsten Verhältnisse angenommen, nur etwa den zwanzigsten Theil der überhaupt resorbirten N-haltigen Nahrung zu spalten und zu verdauen.

Die in diesem Kapitel zur Beantwortung gestellte Frage ist aber auch unschwer direkt experimentell zu lösen. Wir stellten folgenden Versuch an:

Einem grossen Fleischerhund von 35 kg Gewicht wurde,

nachdem er vorher 24 Stunden gehungert hatte, am 20. März in Narkose der Bauch in der Linea alba eröffnet, eine Schlinge von 2 m. Länge aus der Mitte des Dünndarms, in die kein Pankreasgang mündete, ausgeschaltet und mit 37° C. warmer physiologischer Kochsalzlösung so lange durchgespritzt, bis dieselbe klar ablief. Darauf wurde die Schlinge am einen Ende durch doppelte Ligatur verschlossen, durch die Oeffnung am andern Ende wurde eine körperwarme Lösung von 10 g Deuteroalbumose in 250 ccm. Wasser eingegossen und dann diese Oeffnung ebenfalls durch doppelte Ligatur verschlossen. Die Darmschlinge wurde wieder in die Bauchhöhle versenkt und die Bauchwunde durch Nähte geschlossen. Nach 4 1/2 Stunden wurde das Thier getödtet und ihm die Darmschlinge entnommen. Dieselbe enthielt 300 ccm. einer wenig trüben, Schleimfetzen enthaltenden Flüssigkeit. Dieser Darminhalt wurde mit Essigsäure angesäuert, in der Hitze auscoagulirt und filtrirt. Das Filtrat gab sehr starke Biuretreaction; es wurde mit Schwefelsäure angesäuert und mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Es wurde nur das Filtrat der Fällung verarbeitet. Nach Entfernung der Schwefelsäure u. s. w. wurde es zum dünnen Syrup eingeengt. Derselbe, der noch deutliche Biuretreaction gab, zeigte keine Neigung zur Krystallisation. Wir extrahirten ihn daher mehrfach mit Alkohol. Aus dem alkoholischen Extract krystallisirte nach der Verdunstung des Alkohols etwas Natriumacetat, aber keine Spur von Leucin oder Tyrosin.

Die Schleimhaut der abgebundenen Darmschlinge wurde von der Muscularis abgeschabt und mit siedendem, durch Essigsäure angesäuertem Wasser extrahirt. Der wässrige Extract löste Kupfer bei Gegenwart von Alkali mit blauer Farbe, gab aber keine Biuretreaction. Er wurde mit Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure ausgefällt; das von Schwefelsäure etc. befreite und eingeengte Filtrat hat bis zur Zeit nicht die geringste Krystallisation von Leucin und Tyrosin abgesetzt.

Es hatte sich also in der Darmschlinge, in der nur das Erepsin auf Deuteroalbumose einwirken konnte, aus derselben in 4 1/2 Stunden nicht die geringste nachweisbare Menge von Leucin und Tyrosin gebildet.

Als Gegenstück zu diesem Versuch sei in extenso der bekannte Versuch Kühne's mitgetheilt, in welchem er Trypsin auf in den Darm eingebrachtes Fibrin einwirken liess. Er theilt den Versuch, wie folgt, mit:¹⁾

«Um zu sehen, ob im Dünndarm dieselbe Zersetzung der Eiweissstoffe stattfindet, wie ich sie künstlich mittelst des Pankreas erzielt hatte, versuchte ich eine Fibrinverdauung im Darne des lebenden Thieres unter möglichstem Ausschluss anderer Verdauungssäfte als des Pankreassecretes. Da sich meine Erfahrungen vorzugsweise auf das Fibrin erstreckten, so wollte ich von diesem nicht abgehen und bereitete mir deshalb zunächst einen feinen Fibrinschlamm, indem ich das gekochte Fibrin an der Sonne dörkte, in einem Stahlmörser in feines Pulver verwandelte und durch 24 stündiges Stehen in eiskaltem Wasser wieder möglichst zur Quellung brachte. Einem 7 kg wiegenden Hunde, der vor 18 und vor 6 Stunden reichlich Fleisch gefressen hatte, eröffnete ich hierauf die Bauchhöhle dicht unterhalb des Nabels, zog eine Dünndarmschlinge hervor und unterband diese mit einem starken Faden. Dann wurde das Duodenum aus einem Einschnitt unter der letzten rechten Rippe hervorgezogen, zwischen dem Ductus choledochus und dem unteren starken Ausführungsgange des Pankreas unterbunden, eine weite Canüle, nach dem Jejunum gerichtet, eingebunden und nun Wasser von 40° C. eingespritzt. In dem durch die Injection gespannten Theile der unteren Darmschlinge wurde hierauf ein Rohr befestigt und nun so lange Wasser ins Duodenum gespritzt, bis es rein und ungefärbt aus der Röhre abließ. Der Darm war jetzt frei von Chymus und Galle. An Stelle der Röhre wurde nun eine neue Unterbindung angelegt, 20 g des Fibrinpulvers in 180 ccm. warmen Wassers aufgeschwemmt und von oben hereingefüllt, dicht über dem Pankreasgange wieder unterbunden und die Bauchhöhle geschlossen. Nach 4 Stunden, während welcher das Fibrin im Darne nur der Wirkung des Pankreassaftes und des Darmsaftes ausgesetzt sein konnte, wurde das Thier durch Verbluten getödtet und

1) Virchow's Archiv, Bd. 39, S. 155.

das Darmstück, welches eine Länge von 4 Fuss hatte, ausgeschnitten. Dasselbe war nur mässig gefüllt, enthielt noch einen ziemlich bedeutenden Rest grützig aussehender dunkler Masse von dem gewöhnlichen eigenthümlichen Geruche des Dünndarmchymus und starkkalkalischer Reaction. Vibrionen und sonstige niedere Organismen waren bei genauer Musterung mit dem Mikroskope nicht zu entdecken. Augenscheinlich war viel Flüssigkeit bereits resorbirt. Ein kleiner Theil der Masse, erst durch Leinen, dann durch Papier filtrirt, liefert eine etwas opalisirende Lösung, aus welcher Essigsäure etwas Kalialbuminat fällt. Im zweiten albuminatfreien Filtrate war etwas gewöhnliches Albumin enthalten, das durch Kochen, Salpetersäure etc. ausfiel; in dem dritten auch hiervon befreiten Filtrate entstand nach dem Concentriren auf dem Wasserbade mit Alkohol ein Niederschlag von Pepton, während die alkoholische Lösung nach dem Abdampfen mikroskopisch erkennbare Krystalle von Leucin und Tyrosin lieferte. Diese, in Wasser gelöst, gaben sehr schön die Hoffmann'sche Tyrosinreaction. Ein kleiner Theil des ungelösten Fibrins wurde durch Decantiren mit grossen Mengen kalten Wassers gewaschen. HCl von 0,1% bildete daraus sofort Syntonin, kohlen-saures Natron Natronalbuminat und nach dem Verreiben mit 10% iger Kochsalzlösung wurde ein Filtrat erhalten, das in der Hitze und mit Salpetersäure als eiweiss-haltig erkannt wurde. Im Dünndarme wird demnach unter ausschliesslicher Einwirkung des Pankreas- und des Darmsaftes das gekochte Fibrin noch vor der Lösung und Verdauung in einen für die genannten Mittel leicht löslichen Körper verwandelt.

Da der Chymus auch durch Leinen schwer filtrirte, so wurde ein anderes Verfahren nothwendig. Die Masse wurde mit Eiswasser stark verdünnt und gerührt, 12 Stunden zum Absetzen des Ungelösten in der Kälte stehen gelassen, abgossen, der Rest in dichtes Leinen geschlagen, abgepresst, die Flüssigkeit mit Essigsäure versetzt bis zur vollkommenen Fällung des Kalialbuminates, worauf die Lösung schnell und wasserklar durch Papier filtrirte. Dann wurde zum Sieden erhitzt, vom geringen Eiweisscoagulate wieder filtrirt und die

so erhaltene Lösung behandelt, wie es oben für die Verdauungsflüssigkeit angegeben. Ich erhielt auf diese Weise ein freilich geringes Quantum Pepton, das genau die angeführten Reactionen des Pankreaspeptons gab, nur mit dem Unterschiede, dass Essigsäure im Ueberschusse darin eine leichte Trübung bewirkte. Zur Anstellung der Probe mit Ferrocyankalium mussten diese deshalb erst durch ein Filter entfernt werden. Aus der alkoholischen Lösung gewann ich 0,3 g reines Tyrosin und etwa die gleiche Menge Leucin. Die letzte Mutterlauge schied mit Chlorwasser dicke dunkelviolette Flocken aus. Die erhaltene Menge des Tyrosins ist nun offenbar viel zu bedeutend, um als Produkte aus dem Pankreassaft, der während des 4stündigen Versuches in den Darm fließen konnte, aufgefasst werden zu können. Wir können nämlich als Basis für die Rechnung Corvisart's Angaben folgen und damit absichtlich die höchsten Zahlen, die bisher für die Pankreasabsonderung gegeben, wählen, so wird dies sogleich in die Augen fallen. Corvisart erhielt von einem 10 kg schweren Hunde in $2\frac{1}{2}$ Stunden (von der 6. Stunde nach der Fütterung an gerechnet) 45 g Saft. Ueberträgt man dieses Verhältniss auf unseren Hund von 7 kg zugleich mit der Annahme, dass während der 4stündigen Dauer der Saft gleichmässig floss, so ergossen sich 50,4 g Pankreassecret auf das eingeführte Fibrin. Nehmen wir an, der Saft habe 10% fester Bestandtheile enthalten und diese beständen fast ganz aus Eiweiss, was natürlich, wenn auch absichtlich, zu hoch berechnet ist, so könnte dieses Eiweiss = 5 g nach den bei der künstlichen Verdauung gefundenen Verhältnissen (3,86 Tyrosin auf 100 Theile Eiweiss) nur 0,19 Tyrosin geliefert haben. Gefunden wurden aber um $\frac{1}{3}$ mehr.

So wäre denn dargethan, dass bei der Verdauung im Dünndarme des Lebenden aus dem Eiweisse dieselben Zeretzungsprodukte entstehen, wie bei der künstlichen Pankreasverdauung. Dabei bleibt eine etwaige Mitwirkung des Succus entericus vor der Hand unerörtert.»

Die Resultate dieser beiden Versuche, des Kühne'schen und des unserigen, sind klar und durchsichtig und bedürfen

wohl kaum eines Commentares. Zweifellos wird von der Darmschleimhaut normaler Weise ein proteolytisches Enzym abgedondert, das im Grossen und Ganzen mit den Eigenschaften begabt ist, die Cohnheim seinem Erepsin zuschreibt. Seine Wirksamkeit ist aber so schwach, dass es weit hinter dem Trypsin zurückbleibt, und dass man einen wesentlichen Einfluss auf die normale Verdauung diesem Enzym, wie wir jetzt dargethan zu haben glauben, nicht zuschreiben kann. Die Natur, die nicht geizt und möglichst sicher ihr Ziel zu erreichen sucht, hat die Darmwand mit dem Vermögen ausgestattet, ein schwaches tryptisches Enzym abzusondern, das die der Trypsinwirkung entgangenen Reste der Eiweisskörper vollkommen aufzuspalten vermag. Das scheint uns die einfachste Erklärung der von uns und Anderen gefundenen Thatsachen zu sein. Nach einigen Vorversuchen scheint es uns übrigens, als ob auch ein schwach wirkendes, Fette spaltendes Ferment von der Darmwand abgedondert wird, dem in ähnlicher Weise die Aufgabe zufällt, die dem Pankreassteapsin entgangenen Fette zu zersetzen. Wir hoffen, darüber bald berichten zu können.

Wenn wir damit dem Cohnheim'schen Erepsin einen sehr grossen Theil seiner Bedeutung haben nehmen müssen, so verkennen wir nicht Cohnheim's Verdienst, von Neuem die Frage nach dem Wesen und der Art der Eiweissverdauung im Dünndarm mitaufgerollt zu haben und vor Allem, dass er in seiner Methode, nämlich der Untersuchung der Einwirkung von Enzymen auf schon vorverdaute Nahrungsstoffe, uns ein Mittel, gewissermassen ein physiologisches Vergrösserungsglas, an die Hand gegeben hat, um auch schwach wirkende Enzyme, die deswegen bisher unserem Nachweis entgangen sind, sicher zu erkennen.

Als Ergebnisse lassen sich vorstehenden Ausführungen entnehmen:

1. In der resorbirenden Darmwand scheinen sich biuret-freie Extractivstoffe zu finden, welche unter Behandlung mit siedender Säure Leucin abspalten.

2. Die todte Darmwand ist der Selbstverdauung fähig; sie ähnelt derjenigen leucocytenreicher Organe.
 3. Der Dünndarm secernirt ein Enzym, welches schwach Fibrin, etwas stärker Deuteroalbumoselösungen zersetzt.
 4. Als direktes Maass für den Grad der Deuteroalbumosezerersetzung kann der Grad der Verminderung benutzt werden, den die Ablenkung des polarisirten Lichtes erfährt.
 5. Die Bedeutung des proteolytischen Enzyms, welches der Dünndarm secernirt (des Erepsins), für die normale Verdauung des Nahrungseiweisses kann nur gering sein.
-