

## XLI.

Aus dem pharmakologischen Institut der deutschen Universität Prag.

### Erfahrungen über das Erepsin.

Von

med. cand. **Else Raubitschek.**

---

#### I.

Hofmeister und Neumeister waren der Ansicht, dass das Pepton bei der Resorption von den Leukocyten der Darmwand assimiliert werde, weil es weder in den Geweben noch in Blut und Lymphe nachgewiesen werden konnte, und intravenös eingeführt durch Nieren oder Darm den Körper verlässt. Cohnheim<sup>1)</sup> erklärte nun das von Hofmeister, Neumeister und Salvioli beobachtete Verschwinden der Peptone bei Berührung mit der Darmwand dahin: „dass dies nicht auf einer Assimilation oder Restitution zu Eiweiss, sondern einer Weiterspaltung in einfachere Spaltungsproducte beruhe. Diese Spaltung geschehe durch ein besonderes, von der Darmschleimhaut gebildetes Ferment, das Erepsin, welches nur auf Peptone und einen Theil der Albumosen, nicht aber auf genuines Eiweiss wirke“. Bei zahlreichen Verdauungsversuchen konnte sich Cohnheim auch überzeugen, dass ein Extract der Darmschleimhaut (mit alkalischer physiologischer NaCl-Lösung  $\frac{1}{2}$ —12 Stunden) genau so wirke, wie diese selbst. In seinen weiteren Mittheilungen über das Erepsin<sup>2)</sup> prüft er die Wirkungsweise des Fermentes auf verschiedene Eiweisskörper und findet, dass Eiweiss des Pferdeplasma, Ascitesflüssigkeit des Menschen, Vitellin, Rindfleisch nicht angegriffen, Globin nicht gelöst, während Witte-Pepton in 1—2 Tagen ganz gespalten wird. In einer dritten Arbeit<sup>3)</sup> über „das Trypsin und Erepsin“, wo er zahlreiche Versuche mit Dünndarmschlingen, welche Peptonlösungen resorbirten, beschreibt, kommt er zu folgender Ueberlegung: „Da also das Erepsin neben seinem jetzt nachgewiesenen Vorkommen im Darmlumen auch intracellulär wirken kann, und wie bestimmt anzunehmen ist, auch wirklich wirkt, so kann man aus der geringen, im Darmsafte vorhandenen Menge keinen Schluss auf das Verhältniss im Leben ziehen.“

---

1) Zeitschr. f. physiolog. Chemie. 1901. Bd. 33. S. 451.

2) Zeitschr. f. physiolog. Chemie. 1902. Bd. 35. S. 134.

3) Zeitschr. f. physiolog. Chemie. 1902. Bd. 36. S. 13.

Als Gegner der Erepsintheorie traten Kutscher und Seemann<sup>1)</sup> auf, welche unter anderem auch den Einwand erhoben, „dass die Vertheilung der Verdauungsproducte eine andere sein müsste, wenn es wirklich ein im Darmlumen wirksames Erepsin gäbe, nämlich im oberen Abschnitte Peptone, im unteren Aminosäuren, was aber nicht der Fall ist“. Da es ihnen ferner nicht gelang, in der Darmschleimhaut verdauender Tiere Aminosäuren zu finden, so glaubten sie, dass das Erepsin unmöglich in der Darmwand thätig sein<sup>2)</sup> und dass, eine Secretion in das Darmlumen zugegeben, seine Bedeutung für die normale Verdauung des Nahrungseiweisses nur gering sein kann. S. Embden und Fr. Knoop<sup>3)</sup> vermochten sich von einer Spaltung des Peptons in der trypsinfreien und überlebenden Darmwand des pankreasfreien Thieres nicht zu überzeugen. Auch die Frage, ob das im Darmsafte nachgewiesene Erepsin etwa vom Pankreas geliefert werde und nicht vom Darmsafte, ist Gegenstand eifriger Erörterung gewesen. Weinland<sup>4)</sup> hält 1904 die Frage für unentschieden, Vernon<sup>5)</sup> glaubt bewiesen zu haben, dass das Erepsin kein spezifisches Ferment des Darmes sei, doch sind hiegegen von Mays<sup>6)</sup> Einwände erhoben worden. Foá<sup>7)</sup> hält das Erepsin für ein vom Trypsin verschiedenes Ferment. Den Versuchen Tobler's<sup>8)</sup>, der die aus dem Magen stammenden Albumosen einem Gemisch von Darmsaft und Pankreasextract aussetzte und hierbei in kurzer Zeit die Biuretreaction schwinden sah, kommt keine entscheidende Beweiskraft zu, da eben beide Fermente nebeneinander gewirkt haben. Eine Beziehung des Erepsins zum autolytischen Fermente wurde von Cohnheim zurückgewiesen, weil dieses native Eiweisskörper angreift, nicht aber elektiv Albumosen und Peptone. Erwähne ich noch, dass nach Lambert<sup>9)</sup> Fibrin angegriffen wird, nach Vernon nicht, so ergibt es sich, dass die Litteratur über das Erepsin heute noch immer viele Widersprüche enthält, und so mancher Leser dieser Arbeiten wird daher das Bedürfniss nach einer persönlichen Ueberprüfung der bezüglichen Angaben empfinden. Bedenkt man ferner, dass in vielen dieser Angaben auf die Schnelligkeit der Erepsinwirkung für den lebenden Organismus nicht genügend Rücksicht genommen wurde, was zur Beurtheilung seiner physiologischen Rolle von Wichtigkeit ist, — ein Ferment, das die gesammten zugeführten und von der Darmschleimhaut aufgesaugten Eiweisskörper in die letzten Aminosäuren spaltet, müsste rasch arbeiten — so stimmt man dem Urtheile Abderhalden's<sup>10)</sup> bei, „dass es vorläufig schwer ist, sich ein Urtheil über die Existenzberechtigung dieses Fermentes zu bilden“.

1) Zeitschr. f. physiolog. Chemie. 1902. Bd. 34. S. 528.

2) Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. 35. S. 442.

3) Hofmeister's Beiträge. 1903. Bd. 3. S. 129.

4) Zeitschr. f. Biologie. 1903. Bd. 45. S. 292.

5) Maly Jahresbericht. Bd. 34. S. 447.

6) Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. 49. S. 126.

7) Centralbl. f. Physiologie. 1906. Bd. 25.

8) Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. 45. S. 206.

9) Maly Jahresbericht. Bd. 33. S. 510.

10) Lehrbuch f. physiolog. Chemie. 1906.

## II.

Um mich selbst von dem Vorhandensein eines Erepsins zu überzeugen, wählte ich den Weg, die Wirkung des Fermentes extra corpus zu beobachten. Die Gewinnung des Fermentes geschah unter Anlehnung an ein aus unserem Institute hervorgegangenes Verfahren<sup>1)</sup> folgendermaassen: Der Darm eines frisch getödteten Thieres wurde der Länge nach aufgeschnitten, mit Leitungswasser gereinigt, mit physiologischer Kochsalzlösung nachgespült, dann die Schleimhaut mit einem Messer vorsichtig abgeschabt. Der in einer Reibschale mit physiologischer Kochsalzlösung zerriebene Brei wurde dann mit Toluol versetzt durch ein Sieb gepresst, auf eine Glasplatte dünn aufgestrichen und bei 34—40° 24 Stunden lang trocknen gelassen. Die pulverisirte Masse wurde dann in der Kälte mit Toluol und Aceton extrahirt und wieder bei obiger Temperatur getrocknet. Ein solches Pulver bleibt lange Zeit (Wochen und Monate lang) wirksam. Anfangs nahm ich je 0,2 g Pulver zum Verdauungsversuche, später, nachdem ich die Erfahrung machte, dass eine grössere Menge weniger wirksam ist als eine kleine, verwandte ich nur 0,05 g Darmschleimhautpulver. Die Benutzung derartiger Darmpulver hat sich ausserordentlich bewährt, und sie wird sich bei fernerer Untersuchung über die ereptische Leistungsfähigkeit der einzelnen Darmabschnitte des normalen wie des pathologischen Darmes, kurz bei der eventuellen Verwerthung dieser physiologischen Erfahrungen auf die Pathologie des Darmes gewiss empfehlen: ist man doch durch dieses Verfahren in Stand gesetzt, die Darmleistung unter verschiedenen Bedingungen quantitativ abzuschätzen. Das Ferment geht nun aus dem Pulver in physiologische Kochsalzlösung über, löst sich also mit dem Organplasma. [Pohl<sup>2)</sup>]. Diese Thatsache bedeutet ein wichtiges Moment zur Scheidung des ereptischen Fermentes endocellulären Fermenten gegenüber, da zum Beispiel das Harnsäure lösende Ferment und das autolytische Ferment<sup>3)</sup> in das Organplasma nicht übergehen. Entsprechend der Definition des Erepsins als eines elektiv Albumosen und Peptone angreifenden Fermentes haben Cohnheim und Salaskin zur Bewerthung desselben eine Gesamtstickstoffbestimmung im Phosphorwolframsäurefiltrat der betreffenden Eiweisslösung ausgeführt. Auch ich habe mich des Principes dieser Methode bedient und zwar wurde in den betreffenden Ferment-Albumosenlösungen nach Art des Krüger und Schmidt-Pfaundler'schen Verfahrens vor und nach der Digestion bei 40° der Aminosäurestickstoff bestimmt. Nachdem man den Gesamt-N einer Lösung nach Kjeldahl bestimmt hat, wird ein anderer Theil derselben mit Phosphorwolframsäure (PWS-Säure 50 g, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 17 g 93 pCt., H<sub>2</sub>O 433 g) genau ausgefällt und in einem aliquoten Theile des Filtrates der Gesamt-N (A) wieder bestimmt, der sich aus dem Aminosäuren-N und dem N der letzten Spaltungsproducte zusammensetzt. Ein anderer Theil des Filtrates wird mit

1) Wiechowski, Hofmeister's Beiträge. Bd. 9. S. 232.

2) Hofmeister's Beiträge. 1905. Bd. 7.

3) Noch nicht veröffentlichte Erfahrungen der Herren Docenten Wiechowski und Wiener.

concentrirter Phosphorsäure versetzt, 4—6 Stunden bei 150° im Thermostaten erhitzt und dann das gebildete Ammoniak abdestillirt (Stickstoffzahl B). Durch Subtraction der beiden Werthe (A—B) von einander kann man den Aminosäuren-N ermitteln. In allen Fällen ist es ausserdem nothwendig, die zur Probe benutzten Pepton- und Fermentlösungen vor und nach 24 Stunden nach demselben Verfahren auf ihren Gehalt an praeexistenten Aminosäuren zu prüfen, und den erhaltenen Werth beim eigentlichen Versuche in Abzug zu bringen.

Als Beispiel sei folgender Verdauungsversuch angegeben:

20 cem Witte-Peptonlösung (5 g Peptonin 200 cem physiolog. NaCl-Lösung gelöst) wurden mit 0,2 g Hundedarmschleimhautpulver und einigen Tropfen Toluol 24 Stunden bei 40° digerirt, dann wurde aufgeköcht, damit die Fermentwirkung sistire und 5 cem dieses Gemenges auf 50 H<sub>2</sub>O verdünnt. Die Bestimmung der N-Vertheilung ergiebt folgende Werthe:

1. 5 cem dieser verdünnten Lösung liefern NH<sub>3</sub> = 1,35 cem  $\frac{1}{10}$  N.HCl
2. 40 cem dieser Lösung + 2,1 cem Phosphorwolframsäure;  
Filtrat: a) 10 cem liefern NH<sub>3</sub> = 1,6 cem  $\frac{1}{10}$  N.HCl,  
b) 10 cem, wie oben angeführt mit Phosphorsäure digerirt;  
dann durch Destillation NH<sub>3</sub> gewonnen = 0,5 cem  $\frac{1}{10}$  N.HCl.

Die Differenz der beiden letzten Zahlen 1,1 ist der Aminosäurestickstoff, der auf die ganze Probe umgerechnet  $1,1 \times 4,2 \times \frac{5}{4} \cdot 4 = 23,1$ , nach Abzug der im Fermentpulver (5,6  $\frac{1}{10}$  Normal-HCl) und Witte-Pepton (7,4  $\frac{1}{10}$  Normal-HCl) präexistenten Aminosäuren **10,1**  $\frac{1}{10}$  Normal-HCl beträgt. Eine Reihe derartiger Versuche enthält die nachfolgende

Normaltabelle.

Thierart, deren Darm verwendet wurde	Darmschleimhautpulver in g	Peptonlösung in cem	Zunahme des Aminosäurenstickstoffs nach der Digestion	Zunahme in pCt. des Gesamtstickstoffs
Katze . . . . .	0,2	20 mit 0,115 N	+ 13,8 cem $\frac{1}{10}$ HCl	+ 16,7
Hund . . . . .	0,2	20 " "	+ 13,78 "	+ 16,7
Rind . . . . .	0,05	20 " "	+ 15,2 "	+ 17,4
Hund . . . . .	0,05	5 " "	+ 9,4 "	+ 44,7
Hund (Hungerthier)	0,05	20	+ 16,4 "	+ 19,9

Die Controlproben wurden immer derartig ausgeführt, dass das Darmschleimhautpulver gekocht zur Peptonlösung hinzugefügt wurde. Die Versuche sprechen übereinstimmend für die Existenz eines Aminosäuren aus Albumosen abspaltenden Ferments.

### III.

In gleicher Versuchsanordnung brachte ich nun Eiereiweiss, Pferdeserum, Kaninchenserum mit Darmschleimhautpulver zusammen, ohne eine nennenswerthe Abspaltung von Aminosäuren nachweisen zu können, was beweist, dass das Erepsin natives Eiweiss nicht angreift. Die

kleinen Mengen N, die ich hiebei erhielt, rühren von Aminosäuren her, die aus dem Pulver selbst entstehen. Da das Witte-Pepton eine ganz beträchtliche Menge Aminosäuren enthält, fühlte ich mich veranlasst, dasselbe bei den späteren Versuchen zu reinigen, indem ich zwei Mal das in heissem Wasser gelöste Pepton mit Alkohol ausfällte, wodurch die Aminosäuren grösstentheils entfernt wurden.

Fleischpepton, das hergestellt wurde, indem ich 100 g Fleisch (Hund) mit 1 g Pepsin und 400 ccm 0,24 proc. HCl digerirte, später neutralisirte, aufkochte und dann das Filtrat, weil es Aminosäuren enthielt, wie das Witte-Pepton reinigte, wurde von Erepsin angegriffen; ebenso Leimpepton.

Eine weitere Reihe von Versuchen bezog sich auf den Einfluss der Reaction auf die Fermentleistung. Sie ergab in Uebereinstimmung mit einer Angabe Euler's<sup>1)</sup>, welcher die Fermentthätigkeit des Erepsins Peptiden gegenüber mittels Bestimmung des Leitungswiderstandes berechnete, sehr geringe Alkalescenzwerte, nämlich bei 0,06 proc. Natriumcarbonat das Optimum der Wirksamkeit; Cohnheim und Weinland fanden schon früher dasselbe. In neutralen Lösungen wirkt das Ferment genau so gut, wie in schwach alkalischen, es wird dagegen schon durch einen geringen Säuregehalt in seiner Wirkung gehemmt. Wenn man eine Fermentlösung mit Salzsäure versetzt, gegen 6 Stunden digeriren lässt und dann erst eine Peptonlösung hinzufügt, nachdem man noch vorher die Säure neutralisirt hat, so wird nach 24stündiger Digestion schon bei einem ursprünglichen Säuregehalt von 0,1 proc. HCl eine Erepsinwirkung nicht mehr beobachtet: das Erepsin ist zerstört worden. Die Zahlenwerthe dieser Versuchsreihe sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

Erepsinenergie bei wechselnder Reaction.

%	Pulvermenge in g	Peptonlösung in ccm	Zunahme des Aminosäure- stickstoffs in $\frac{1}{10}$ N. HCl
0,2 Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0,2	20	0
0,2 NaHCO <sub>3</sub>	0,2	20	2,06
0,1 Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0,2	20	4,84
0,06 Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0,2	20	9,12
0,1 HCl	0,2	20	0
0,05 HCl	0,2	20	0
0,025 HCl	0,2	20	1,05

Die Annahme Vernons, dass Erepsin kein spezifisches Darmferment sei, sondern sich in den verschiedensten Organen befinde, konnte ich nicht bestätigen. Versuche mit gepulverter Leber, Herzmuskel, Magen und Mesenteriallymphdrüsen ergaben zu kleine Mengen von Aminosäuren, als dass sie mit Sicherheit als das Product einer Fermentspaltung hätten angesehen werden können.

Eine nächste Versuchsreihe befasste sich damit, die Schnelligkeit der Wirkungen des Erepsins zu messen; sie ergab, dass eine nennenswerthe

1) Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. 51. S. 213.

Spaltung von Witte-Pepton erst nach 2 Stunden, das Optimum der Wirksamkeit aber erst nach 6 Stunden und bei Körpertemperatur erreicht wird (s. folgende Tabelle).

Zeit in Stunden	Pulvermenge in g	Peptonmenge in cem	Zunahme des Aminosäure- stickstoffs in $\frac{1}{10}$ N.HCl
1	0,05	10	0
2	0,05	10	1
4	0,05	10	1,6
6	0,05	10	7,5
8	0,05	10	7,5
24	0,05	10	7,56
48	0,05	10	7,6

Eine Darmfermentlösung, welche bereits einmal Pepton zerlegt hat, ist nicht mehr im Stande, ein zweites Mal verwendet, spaltend zu wirken.

Um den hemmenden oder fördernden Einfluss einzelner Substanzen zu studiren, fügte ich den einzelnen Pepton-Fermentlösungen geringe Mengen von Blut, Galle, ferner Calciumchlorid, Tinctura Fowleri und Natriumsulfat in Dosen, wie sie die Darmwand in vivo passiren können, hinzu. In keinem der Fälle trat eine Hemmung, doch auch keine Förderung der Erepsinwirkung ein. Die Versuche ergaben stets die gleichen Zahlen, wie die reinen Peptonlösungen.

Um dem Einwande zu entgehen, dass vielleicht die pulverisirte Darmschleimhaut Stoffe enthalte, welche die Erepsinwirkung hemmen könnten, stellte ich auch Extracte desselben her. Einmal extrahirte ich die Darmschleimhaut mit physiologischer Kochsalzlösung, das andere Mal mit Glycerin und fällte dann das Ferment mit Alkohol. Dennoch liess sich bei entsprechender Einwirkung auf Witte-Pepton keine gegenüber der oben angeführten gesteigerte Wirkung wahrnehmen.

Die Unschädlichkeit mancher bakterieller Toxine, mancher chemisch definirter Gifte per os wird auf ihre Zerstörung durch Magen-Darmfermente zurückgeführt. Ist das Erepsin in dieser Richtung leistungsfähig, ist es ein Schutzmittel gegen die Intoxication vom Darm aus?

Meine Versuche darüber, ob das Ferment die agglutinirende Kraft des Ricins vernichten könne, gaben ein negatives Resultat. Ebenso konnte Curarin in seiner specifischen Fähigkeit, die peripheren Nervenendigungen zu lähmen, durch Digestion mit einer Erepsinlösung nicht gehemmt werden. Hier sind noch abschliessende Versuche, etwa mit Tetanustoxin, nothwendig.

Resumire ich das Wesentliche der geschilderten Befunde, so geht aus den Verdauungsversuchen hervor, dass ein specifisches Ferment, Erepsin, zwar existirt, extra corpus nur einen kleinen Theil der Peptone abbaut und in geringen Mengen (0,05 g) bereits wirksam ist; zu maximaler Leistung braucht das Erepsin Stunden und ganz schwach alkalische Reaction. Ob sich diese Bedingungen intra vitam in der Darmwand, im Darmlumen dauernd so gegeben finden, dass die gesammte eingeführte Eiweissmenge rasch genug abgebaut werden kann, das festzustellen muss Gegenstand weiterer Untersuchung sein.