

# **Vergleichende Untersuchung über den Abbau des Edestins durch Pankreassaft allein und durch Magensaft und Pankreassaft.**

Von

**Emil Abderhalden und Alfred Gigon.**

---

(Aus dem Chemischen Institut der Universität Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 29. Juli 1907.)

---

Unter normalen Verhältnissen vollzieht sich die Verdauung der Proteine in verschiedenen Phasen. Zunächst findet durch den Magensaft ein schon recht weit gehender Abbau statt, der aber nicht oder doch nur in sehr geringem Maße bis zu den einfachsten Bausteinen — den Aminosäuren — führt. Dann unterliegen die entstandenen Bruchstücke der Einwirkung des Pankreassaftes und schließlich entfaltet noch das von Cohnheim entdeckte Erepsin seine Wirkung. Die Bedeutung der Magenverdauung ist noch nicht ganz klar gestellt, wenigstens gilt dies für die meisten Proteine. Klar ist dessen Bedeutung bei der Verdauung vieler Eiweißkörper der Gruppe der Albuminoide und überhaupt von Proteinen, welche der Einwirkung des Trypsins schwer zugänglich sind. Für die von Pankreassaft leicht, auch ohne vorbereitende Spaltung angreifbaren Proteine kann man der Magenverdauung insofern eine Bedeutung zuweisen, als der Pankreassaft das bereits weit abgebaute Eiweiß in kürzerer Zeit vollends aufspalten kann. Wir suchten diesem Probleme durch direkte Versuche näher zu kommen, indem wir mit einem bestimmten Eiweiß folgende Untersuchungen ausführten. Wir setzten eine abgewogene Menge von Edestin mit Magensaft an und zu gleicher Zeit eine gleiche Menge desselben Eiweißkörpers mit durch Darmsaft aktiviertem Pankreassaft. Nach einer bestimmten Zeit brachen wir die Magensaftverdauung ab, neutralisierten das Verdauungsgemisch mit Natriumbicarbonat und verdauten nun mit derselben Menge von Pankreassaft weiter, wie sie der zweiten

Probe zugesetzt worden war. Gleichzeitig setzten wir eine dritte gleiche Menge desselben Proteins mit Pankreassaft an. Zu gleicher Zeit unterbrachen wir dann alle drei Versuche und bestimmten nun den Gehalt der Verdauungsflüssigkeit an freiem Tyrosin und an freier Glutaminsäure. Wir haben diese Versuche mit Edestin aus Hanfsamen ausgeführt. Die Resultate waren in allen Fällen dieselben, nur unterscheiden sie sich quantitativ. Zunächst war in allen Fällen die Verdauung bei dem Versuche am weitesten vorgeschritten, bei dem während der ganzen Dauer Pankreassaft zur Wirkung kam, dann folgt diejenige Probe, bei der eine Magensaftverdauung vorausgegangen war. Am wenigsten weit abgebaut war diejenige Probe, welche gleich lange mit Pankreassaft verdaut worden war, wie die mit Magensaft vorverdaute. Hier kommt somit die Bedeutung der Magensaftverdauung deutlich zum Ausdruck und zwar um so prägnanter, je kürzer der ganze Versuch gedauert hat. Wir haben einen vorläufigen Versuch mit Fleisch ausgeführt, das reichlich Bindegewebe enthielt. Hier war der Einfluß der Magensaftverdauung noch viel deutlicher. Wir werden auf diese Versuche später noch zurückkommen. Zugleich ergeben diese Versuche eine wertvolle Bestätigung des Befundes des einen von uns mit Béla Reinbold,<sup>1)</sup> nämlich, daß der Abbau der Proteine stufenweise erfolgt und nicht alle Aminosäuren gleichmäßig rasch abgespalten werden. So wird das gesamte Tyrosin viel früher frei als die gesamte Glutaminsäure. Wir wollen noch betonen, daß unsere Versuche keinen umfassenden Einblick in die Bedeutung der Magenverdauung geben. Wir haben nur die Menge des Tyrosins und der Glutaminsäure festgestellt. Es ist nicht unmöglich, daß eine Bestimmung der übrigen Aminosäuren einen noch deutlicheren Einfluß der Magensaftverdauung ergeben würde. Es unterliegt keinem Zweifel, daß Pepsinsalzsäure das Eiweißmolekül an ganz anderen Stellen angreift als das Trypsin, und es ist wohl möglich, daß durch die Magensaftverdauung dem Trypsin ganz allgemein Gruppen zugänglich gemacht werden, welche sonst recht widerstandsfähig

<sup>1)</sup> Emil Abderhalden und Béla Reinbold, Der Abbau des Edestins aus Baumwollsaamen durch Pankreassaft, Diese Zeitschr., Bd. XLVI, S. 159, 1905.

sind. Sobald die Methoden der quantitativen Bestimmung der einzelnen Aminosäuren besser ausgebildet sind, wird man das ganze Problem in viel exakterer Weise in Angriff nehmen können. Der vorliegende Versuch soll die erste Etappe in diesen Bestrebungen bilden.

Das zu den folgenden Versuchen verwendete Edestin enthielt in 100 g 2,3 g Tyrosin und 16,5 g Glutaminsäure. Die Verarbeitung der einzelnen Versuche wurde in der Weise vorgenommen, daß die Verdauungsflüssigkeit mit soviel Wasser verdünnt wurde, daß sie etwa 1% an festen Stoffen enthielt. Dann wurde sie aufgekocht, filtriert und der Filtrerrückstand solange ausgekocht, bis das Waschwasser keine Reaktion mit Millons Reagens mehr gab. Die klare Lösung der vereinigten Filtrate wurde nun solange mit einer 10%igen Phosphorwolframsäurelösung versetzt, als Fällung eintrat. Der Niederschlag wurde abgesaugt, scharf abgepreßt und mit Wasser ausgewaschen. Im Filtrat fällten wir den Überschuß an Phosphorwolframsäure mit Baryt und dessen Überschuß mit Schwefelsäure. Das Filtrat vom Baryumsulfat engten wir dann unter vermindertem Druck bis auf ein kleines Volumen ein. Die weitere Konzentration erfolgte auf dem Wasserbade, bis Krystallisation eintrat. Dieser Prozeß wurde solange wiederholt, als Tyrosin vorhanden war. Das erhaltene Rohtyrosin wurde dann in heißem Wasser gelöst und unter Anwendung von Tierkohle umkrystallisiert. Die verbleibende Mutterlauge wurde, sobald sie tyrosinfrei war, mit derjenigen des Rohtyrosins vereinigt, und diese Lösung dann stark konzentriert. Durch Einleiten von gasförmiger Salzsäure in diese Lösung und Stellen auf Eis schieden wir dann die Glutaminsäure als Chlorhydrat ab. Das erhaltene Rohprodukt krystallisierten wir unter Anwendung von Tierkohle aus verdünnter Salzsäure um. Durch Einengen und Einleiten von gasförmiger Salzsäure vervollständigten wir die Abscheidung.

#### Versuch I.

1. 100 g Edestin am 12. I. 07. mit 1 l Magensaft vom Hunde (0,45% HCl) übergossen. Am 16. I. 07. wurde die Lösung mit Natriumbicarbonat neutralisiert und mit 20 ccm

mit 5% Darmsaft versetztem Pankreassaft vom Hunde vermischt. Zur Verhinderung der Fäulnis war Toluol zugesetzt. Dies gilt auch für alle folgenden Versuche.

2. 100 g Edestin am 12. I. 07. in 1 l Wasser suspendiert und die Mischung mit 20 ccm Pankreassaft, dem 5% Darmsaft zugesetzt waren, versetzt.

3. 100 g Edestin wurden am 16. I. 07. in 1 l Wasser suspendiert und dieselbe Menge Pankreassaft + Darmsaft zugegeben wie bei Versuch 2.

Am 20. I. 07. wurden alle Versuche abgebrochen, nachdem alle Proben während der ganzen Versuchsdauer bei 37° aufbewahrt und oft umgeschüttelt worden war.

Isoliert wurden bei Versuch 1 Verdauung mit Magensaft während 4 Tagen und mit Pankreassaft während 4 Tagen: 2,2 g Tyrosin und 5,5 g Glutaminsäure.

Bei Versuch 2 Verdauung mit Pankreassaft während 8 Tagen: 2,25 g Tyrosin und 8,0 g Glutaminsäure.

Bei Versuch 3 Verdauung mit Pankreassaft während 4 Tagen: 2,0 g Tyrosin und 4,5 g Glutaminsäure.

#### Versuch II.

1. 100 g Edestin am 2. II. 07. mit 1 l Magensaft vom Hunde angesetzt. Am 6. II. Neutralisation mit Natriumbicarbonat und Zusatz von 30 ccm Pankreassaft + 2 ccm Darmsaft vom Hunde. Am 8. II. wurde der Versuch abgebrochen. Isoliert 2,1 g Tyrosin und 5,0 g Glutaminsäure.

2. 100 g Edestin am 2. II. 07. in 1 l Wasser suspendiert und mit 30 ccm Pankreassaft + 2 ccm Darmsaft versetzt. Am 8. II. Versuch abgebrochen. Isoliert 2,25 g Tyrosin, 6,0 g Glutaminsäure.

3. 100 g Edestin am 6. II. in 1 l Wasser suspendiert und mit 30 ccm Pankreassaft + 2 ccm Darmsaft versetzt. Am 8. II. Versuch abgebrochen. Isoliert 2,3 g Tyrosin und 3,0 g Glutaminsäure.

#### Versuch III.

1. 100 g Edestin am 2. II. 07. mit 500 ccm Magensaft + 500 ccm Wasser übergossen. Am 10. II. Neutralisation mit

Natriumbicarbonat und Weiterverdauung mit 20 ccm Pankreassaft + 2 ccm Darmsaft. Am 20. II. Versuch abgebrochen. Isoliert 2,3 g Tyrosin und 10,5 g Glutaminsäure.

2. 100 g Edestin am 2. II. 07. in 1 l Wasser suspendiert und mit 30 ccm Pankreassaft + 2 ccm Darmsaft versetzt. Am 20. II. Versuch abgebrochen. Isoliert 2,25 g Tyrosin und 12,0 g Glutaminsäure.

3. 100 g Edestin am 10. II. in 1 l Wasser suspendiert und mit 30 ccm Pankreassaft + 2 ccm Darmsaft versetzt. Versuch am 20. II. abgebrochen. Isoliert 2,3 g Tyrosin und 10,0 g Glutaminsäure.

#### Versuch IV.

1. Ein Gemisch von 100 g Edestin, 100 ccm Wasser, 500 ccm Magensaft und 20 ccm Toluol am 6. V. 07. in den Brutraum gestellt. Am 14. V. Neutralisation mit Soda und Zusatz von 40 ccm Pankreassaft + 9 ccm Darmsaft. Der Versuch wurde am 24. V. abgebrochen. Erhalten: 2,25 g Tyrosin und 9,5 g Glutaminsäure.

2. 100 g Edestin am 6. V. 07. mit 500 ccm Wasser und 40 ccm Pankreassaft + 9 ccm Darmsaft + 20 ccm Toluol übergossen. Am 24. V. wurde der Versuch unterbrochen. Isoliert 2,3 g Tyrosin und 11,5 g Glutaminsäure.

3. 100 g Edestin am 14. V. 07. mit 500 ccm Wasser und 40 ccm Pankreassaft + 9 ccm Darmsaft + 20 ccm Toluol übergossen und bis zum 24. V. im Brutraum aufbewahrt. Isoliert 2,1 g Tyrosin und 8,5 g Glutaminsäure.

#### Versuch V.

1. 100 g Edestin + 600 ccm Magensaft + 10 ccm Toluol. Dieses Gemisch verblieb vom 4.—12. VI. im Brutraum. Am 12. VI. wurde die Verdauungsflüssigkeit mit Natriumbicarbonat neutralisiert und nach Zusatz von 20 ccm Pankreassaft und 4 ccm Darmsaft bis zum 17. VI. bei 37° belassen. Erhalten wurden 2,2 g Tyrosin und 8,0 g Glutaminsäure.

2. 100 g Edestin am 4. VI. mit 500 ccm Wasser und 20 ccm Pankreassaft + 4 ccm Darmsaft + Toluol übergossen und bis

zum 17. VI. im Brutraum belassen. Ausbeute: 2,3 g Tyrosin und 8,5 g Glutaminsäure.

3. 100 g Edestin am 12. VI. mit 500 ccm Wasser, 20 ccm Pankreassaft + 4 ccm Darmsaft + Toluol übergossen und bis zum 17. VI. im Brutraum belassen. Ausbeute: 2,2 g Tyrosin und 6,0 g Glutaminsäure.

Ein Blick auf die Resultate dieser Versuche zeigt, daß sie eindeutig sind. Überall finden wir ungefähr gleiche Mengen an Tyrosin, dagegen zeigen sich Unterschiede in der Menge der abgeschiedenen Glutaminsäure. Ihre Menge ist am größten, wenn das Edestin während der ganzen Versuchsdauer der Einwirkung von Pankreassaft und Darmsaft ausgesetzt war. Die zweitgrößte Menge an Glutaminsäure fanden wir, wenn der tryptischen Verdauung während der gleichen Versuchsdauer eine Einwirkung von Magensaft vorausgegangen war. Am geringsten war die Ausbeute, wenn diese peptische Verdauung wegfiel und die Verdauung mit Pankreassaft eine gleich lange war, wie bei dem mit Magensaft vorverdauten Präparate. Jedenfalls zeigen diese Versuche klar und deutlich den Einfluß der Magensaftverdauung und zwar um so prägnanter, je weniger die Versuche ausgedehnt worden waren. Je länger die Verdauung dauert, um so mehr verwischen sich die Unterschiede. Es sei noch bemerkt, daß wir Versuche angestellt haben, um den Einfluß des Erepsins klarzustellen. Wir verdauten Edestin mit Magensaft und fügten dann nach erfolgter Neutralisation mit Natriumbicarbonat zu der einen Portion Pankreassaft und zu einer zweiten Darmextrakt. Die Resultate waren schwankend und nur insofern einheitlich, als die mit Darmextrakt verdaute Probe viel weniger abgebaut war als die mit Pankreassaft angesetzte. Ein anderes Resultat erhielten wir, wenn wir Edestin zunächst mit Magensaft vorverdauten, dann Pankreassaft zusetzten und nun in dem einen Parallelversuche nach einiger Zeit noch Darmextrakt zufügten. In allen Fällen war bei letzterer Probe am meisten Glutaminsäure abgespalten. In einer Versuchsreihe war fast zweimal soviel Glutaminsäure nachweisbar als bei der gleichlange dauernden Pankreassaftverdauung. In andern Fällen war der Unterschied nicht so eklatant. Worauf

diese Unterschiede beruhen, können wir vorläufig nicht mit Sicherheit angeben. Es ist möglich, daß es auf diesem Wege gelingt, zu zeigen, daß, wie Cohnheim es schon ausgesprochen hat, das Erepsin auf ganz bestimmte Abbaustufen eingestellt ist. In diesem Falle dürften wohl die wechselnden Resultate auf das verschiedenartige Material, das bei der Verdauung mit Erepsin zur Anwendung kam, zurückzuführen sein.

---