

# Über die Spaltungsproducte des Eiweißes bei der Verdauung.

III. Mittheilung.

## Über das sogenannte Amphopepton

von

Dr. Sigmund Fränkel und Dr. Leo Langstein.

Aus dem chemischen Laboratorium des Hofrathes Prof. Ad. Lieben an der k. k. Universität in Wien.

(Vorgelegt in der Sitzung am 7. Februar 1901.)

Der Begriff »Pepton« ist im Laufe der Jahre ungemein eingeschränkt worden. Während Meissner unter Pepton das Verdauungsproduct überhaupt, welches bei der Einwirkung von Pepsin und Salzsäure aus Eiweiß entsteht, verstanden hat, schränkte Brücke diesen Begriff dahin ein, dass er mit dem Ausdrücke »Pepton« nur diejenige Substanz bezeichnete, welche bei der Neutralisation der Lösung des mit Pepsin-Salzsäure verdauten Eiweißes nicht herausfiel und die mit Essigsäure und Ferrocyankalium keine Fällung mehr gab. Durch die Untersuchungen Kühnes stellte es sich heraus, dass das Brücke'sche Pepton sich noch weiter trennen lasse und zwar durch Sättigen der Lösung mit Kochsalz und späterhin mit Ammonsulfat. Man erhielt auf diese Weise einerseits Substanzen, die in concentrirten Ammonsulfatlösungen unlöslich waren (Albumosen) und solche, die bei jeder Reaction in Ammonsulfat löslich waren (Pepton). Entfernte man aus der Lösung das Ammonsulfat, was Kühne auf eine sehr umständliche Art bewirkte, so gelangte man zu einem Körper, der so hygroskopisch war wie Phosphorsäureanhydrid. Diese, Amphopepton genannte, Substanz gab alle Farbenreactionen

der Eiweißkörper, während die Eiweißfällungsmittel fast völlig versagten. Die Kühne'sche Vorstellung, ebenso wie die seines Schülers Neumeister geht dahin, dass bei der Verdauung das Eiweiß durch eine Reihe von Zwischenstufen, als welche die Albumosen angesehen werden, schließlich in Amphopepton, das letzte Verdauungsproduct verwandelt wird. Nur eine Deuteroalbumose wurde von Neumeister ebenfalls als Endproduct der Pepsinverdauung angesehen. Wie aus dem Folgenden zu entnehmen sein wird, lassen sich weder die Angaben, noch die Schlussfolgerungen Kühnes weiterhin aufrecht erhalten.

Wenn man Amphopepton mit Trypsin verdaut, so erhält man nach Kühnes Angaben Leucin, Tyrosin und Antipepton. Da Kühne dem Amphopepton auch die Millon'sche Reaction zuschreibt, so ist daraus zu erschließen, dass in den von ihm untersuchten Präparaten der hydroxylierte, aromatische Complex des Tyrosins enthalten war. Aber schon Kühne war es aufgefallen, dass eine Amphopeptonlösung, mit Kali und einem Bleisalz gekocht, keine Schwefelbleireaction gab, ein Umstand, der von einem von uns des weiteren untersucht wurde. Daraus war zu erschließen, dass beim Amphopepton der Complex der Amidothiomilchsäure (Cystin) fehlt.

Die Untersuchungen von Schrötter haben gezeigt, dass durch Säuren entstandene Peptone schwefelfrei sind, was einer von uns (F.) für das durch Verdauung mit Pepsinsalzsäure gewonnene Pepton nachzuweisen in der Lage war. Aus dem mittels Ammonsulfat oder mittels Alkohol aus dem Gemenge der Verdauungsproducte isolierten Pepton konnte durch weitere Trennung ein völlig schwefelfreier Körper erhalten werden. Es musste also das Kühne'sche Pepton schon nach dieser Untersuchung aus mindestens zwei Substanzen bestehen: Aus einem Körper, welcher noch den festgebundenen, sogenannten Taurin-Schwefel, nicht aber die Sulfhydrylgruppe enthält und der in geringerer Quantität vorhanden, und aus einem zweiten Körper, dem eigentlichen Pepton, welches überhaupt schwefelfrei ist. Schon aus diesen Untersuchungen war zu ersehen, dass das Amphopepton weder eine einheitliche Substanz, noch eine Gruppe von naheverwandten chemischen Substanzen darstellt, sondern dass wir es hier mit mindestens zwei chemisch stark

differenten Körpern, einem schwefelfreien und einem schwefelhaltigen, zu thun haben.

Die Untersuchungen von Pick führten aber dazu, noch weitere Differenzierungen im Amphopepton anzunehmen. In einer älteren Untersuchung hat der eine von uns gezeigt, dass Pepton mit Bromwasser, sowie mit Jod-Jodkaliumlösung unlösliche Verbindungen gibt. Pick hat diese Eigenschaft benützt, um aus der mit Ammonsulfat gesättigten Peptonlösung nach Abscheidung der Albumosen die Peptone als Jodverbindungen zu fällen. Es gelingt dies soweit, dass man nach der Ausfällung mit Jod-Jodkalium im Filtrate kaum mehr eine Andeutung einer Biuretreaction erhält. Der Jodpeptonniederschlag löst sich zum Theile in Alkohol, zum Theile ist er in diesem unlöslich. Der unlösliche Antheil wurde von Pick als Pepton *A*, der in Alkohol lösliche Antheil als Pepton *B* bezeichnet. Beide Peptone geben die Biuretreaction, aber keines von beiden enthält bleischwärenden Schwefel. Die Millon'sche Reaction fällt beim Pepton *A* sehr schwach aus, beim Pepton *B* gelingt sie überhaupt nicht, so dass vielleicht in dem einen Pepton die Tyrosingruppe gar nicht vorhanden ist. Doch war die Möglichkeit gegeben, dass die Millon'sche Reaction aus dem Grunde bei den Präparaten von Pick nicht aufgetreten ist, weil bei diesen Körpern der Hydroxylwasserstoff der Oxyphenylgruppe durch Jod ersetzt war und so diese Gruppierung bei der charakteristischen Millon'schen Reaction sich nicht verrieth. Eine Analogie hiefür wäre das Verhalten der Einwirkungsproducte von Halogen auf Eiweiß, wie sie uns durch die Untersuchung von Hopkins und Brook (*Journal of Physiology*, XXII, 195) und Hofmeister (*Zeitschrift für physiologische Chemie*, 1898, XXIV, 167) bekannt worden sind. Diese Präparate geben ebenfalls keine Millon'sche Reaction, obwohl naturgemäß die Tyrosingruppe bis auf den Ersatz des Hydroxylwasserstoffes durch Halogen in diesen Körpern intact geblieben und vorhanden ist. Dass der aromatische Kern nach wie vor in diesen Producten vorhanden war, zeigt ja der positive Ausfall der Xanthoproteinreaction bei den Präparaten von Hopkins und Brook. Eine weitere Analogie zeigt auch das Verhalten des Dibromtyrosins dem Millon'schen Reagens

gegenüber, welches gar keine Farbenreaction zeigt, im Gegensatz zur prachtvollen Rothfärbung des Tyrosins selbst. Von der Untersuchung der Halogenderivate war also eine Lösung dieser Frage, ob der aromatische Complex des Tyrosins im Amphopepton enthalten ist, nicht zu erhoffen. Späterhin hat Zunz (Zeitschrift für physiologische Chemie, XXVII, 219) in einem Versuche, bei welchen die Albumosen statt mit Ammonsulfat mit Zinksulfat entfernt wurden, die beiden Pick'schen Fractionen nach Abscheidung des Zinksulfates durch bloße Trennung mittels Alkohol erhalten. Doch stimmten die so erhaltenen Körper nicht mit denen von Pick überein. Das alkohollösliche Pepton *B* gibt nach Angaben von Zunz im Gegensatz zu Pick die Millon'sche Reaction und die Xanthoproteinreaction.

Wie Pick, findet auch Zunz, dass nur das Pepton *A* die Molisch'sche Reaction gibt.

### Allgemeiner Theil.

Es ist uns gelungen, durch Verfahren, die im experimentellen Theile beschrieben sind, das sogenannte Amphopepton Kühnes in chemisch ganz differente Körper zu trennen, wodurch erwiesen ist, dass das Kühne'sche Amphopepton, beziehungsweise die in Ammonsulfat löslichen Producte der peptischen Verdauung der Eiweißkörper keineswegs eine einheitliche Substanz, oder ein Gemenge chemisch ähnlicher oder naheverwandter Substanzen ist, sondern sich als Gemenge chemisch durchaus verschiedener Substanzen charakterisieren lässt. Durch unsere Untersuchungen lassen sich verschiedene bestimmte chemische Characteristica dieser Substanzen feststellen.

Wir haben gefunden, dass das sogenannte Amphopepton Kühnes sich vorerst durch Alkohol in zwei Fractionen zerlegen lässt:

Die alkohollösliche Fraction gibt weder die Millon'sche Reaction, noch die Reaction mit Salpetersäure und Natronlauge (Xanthoproteinreaction). Ebenso wenig gibt sie die Molisch'sche Reaction mit  $\alpha$ -Naphtol und Schwefelsäure. Mit Alkali und Bleilösung lässt sich in der Siedehitze kein Schwefelblei

erzeugen. Von den charakteristischen Farbenreactionen der Eiweißkörper gibt die alkohollösliche Peptonfraction nur mehr eine einzige, und zwar die Biuretreaction. Unsere Analysen haben aber gezeigt, dass diese alkohollösliche Fraction festgebundenen Schwefel, wenn auch nicht in wesentlichen Mengen enthält. Es ist uns nun gelungen, diese alkohollösliche Fraction weiter zu trennen und zu zeigen, dass sich der schwefelhaltige Antheil von dem schwefelfreien scheiden lässt, wenn man nach Baumann-Schotten benzoyliert und die Benzolverbindung mit Äther aufnimmt. In den Äther geht bis auf minimale Spuren nur der schwefelfreie Antheil über. Aus diesem Grunde müssen wir annehmen, dass die alkohollösliche Fraction des Peptons ein Gemenge von mindestens zwei chemisch verschiedenen Substanzen ist. Die eine Substanz, welche in geringerer Menge vorhanden ist, enthält Schwefel in fester Bindung und ist als die Muttersubstanz des Taurins anzusehen. Die Hauptmenge der alkohollöslichen Fraction besteht aber aus einem zweiten Körper, welcher eine ätherlösliche Benzoylverbindung gibt. Dieser Körper zeigt von allen Eiweißreactionen nur die Biuretreaction. Es fehlt ihm der aromatische Complex des Tyrosins und ebenso die Kohlehydratgruppe. Ferner ist er völlig schwefelfrei. Es lässt sich daher dieser alkohollösliche, schwefelfreie Körper als ein den Protaminen, den nach Kossels Anschauungen einfachsten Eiweißkörpern, nahestehender ansehen, da von den bekannten Gruppierungen im Eiweiße nur mehr diejenigen in dieser Substanz nachweisbar sind, welche ihre Anwesenheit durch die sogenannte Biuretreaction verrathen. Doch gibt diese Substanz im Gegensatz zu den Protaminen kein leicht krystallisierendes Chlorhydrat. Leider reichten unsere Substanzmengen nicht aus, um zu untersuchen, ob nicht irgend ein anderer aromatischer Complex in dieser Substanz zu finden wäre, wogegen aber der negative Ausfall der Xanthoproteinreaction sehr spricht. Aus welchen tiefsten Spaltungsproducten des Eiweißes dieser schwefelfreie Körper besteht, sollen weitere von uns in Aussicht genommene Untersuchungen zeigen.

Die in Alkohol unlösliche Fraction zeichnet sich besonders durch den intensiven Ausfall der Molisch'schen Reaction

aus. Wir konnten aber experimentell nachweisen, dass die Molisch'sche Reaction nicht dem alkoholunlöslichen Pepton angehört, sondern dass die alkoholunlösliche Fraction mindestens aus zwei Substanzen besteht, die eine Substanz gibt die Biuretreaction und die Millon'sche Reaction, sowie die Xanthoproteinreaction, während wir die andere Substanz für identisch halten mit dem in der vorhergehenden Abhandlung beschriebenen Albamin, dem stickstoffhaltigen Kohlehydrat-complex des Eiweißes. Dass das Pepton die Kohlehydratgruppe nicht etwa enthält, sondern nur mit derselben vermengt ist, konnten wir demonstrieren, indem wir nach dem Alkoholverfahren das Pepton, welches die Millon'sche Reaction gibt, darstellten, welches dann die Molisch'sche Kohlehydratreaction nicht mehr gab. Dass das Pepton A von Pick und Zunz, sowie die alkoholunlösliche Fraction, welche wir darstellten, noch Kohlehydrat enthält, lässt sich aus dem Grunde leicht erklären, weil durch Ammonsulfat das Albamin mit den Deuteroalbumosen nicht völlig herausfällt und wegen seiner Unlöslichkeit in starkem Alkohol, dann mit dem in Alkohol schwerlöslichen Pepton gemengt, präcipitirt.

### **Experimenteller Theil.**

Bei unseren Untersuchungen haben wir vor allem die Absicht verfolgt, möglichst aschefreie Präparate zu erlangen, welche eventuell für elementar-analytische Zwecke benützt werden könnten. Wir giengen bei unseren Versuchen vom Hühnereiweiß aus, einzelne Präparate wurden auch aus Witte-Pepton dargestellt, aber wir benützten letzteres nur, um unsere Versuche in größerem Maßstabe zu wiederholen. Das von den Globulinen befreite Eiweiß wurde durch Coagulation und Abpressen, sowie durch Auskochen mit Wasser in der gleichen Weise gereinigt, wie es in der vorhergehenden Mittheilung beschrieben wurde. So dargestelltes Eiweiß, von dem wir aus 200 g Albumin circa 120 g erhielten, wurde mit zweipromilliger Salzsäure und reinstem Pepsin durch 16 Tage verdaut. Während dieser Zeit wurde öfters Salzsäure zugefügt, sobald es sich herausstellte, dass eine Probe die Phloroglucin-Vanillinreaction

nicht mehr gab. Hierauf wurde der Verdauungsact solange fortgesetzt, bis die hinzugefügte Salzsäure verbraucht war.

**a) Darstellung von Pepton mittels Ammonsulfat.**

Die Verdauungsflüssigkeit wurde mit Ammonsulfat bei saurer und neutraler Reaction in der Siedehitze abgesättigt und das Filtrat mit dem doppelten Volumen 96procentigen Alkohols versetzt. Die alkoholische Lösung wurde abgehoben und abdestilliert, wo dann noch eine weitere Krystallisation von Ammonsulfat, wenn auch in geringerer Menge, erfolgt. Nach dem Absaugen des Syrups von den Ammonsulfatkrystallen wurde ersterer in absoluten Alkohol gegossen. Der absolute Alkohol scheidet einen Körper ab, der in intensiver Weise die Molisch'sche Reaction, sowie die Millon'sche und die Biuret-reaction gibt. Die alkoholische Lösung wird mit Äther gefällt und zur Entfernung der letzten Spuren von Ammonsulfat nochmals mit Alkohol gereinigt. Dieser Körper zeigt folgende Reactionen:

Er gibt mit Kali und Kupfervitriol eine prachtvolle Biuret-reaction. Die Millon'sche Reaction, sowie die Salpetersäure-reaction fallen negativ aus. Ebenso fällt die Kohlehydratreaction von Molisch gänzlich negativ aus. Auch der bleischwärende Schwefel mangelt dieser Substanz. Mit Kupfersalzen gibt sie keinen Niederschlag, während die Alkaloidreagentien einen solchen hervorrufen. Bromdämpfe und Jod-Jodkaliumlösungen geben einen reichlichen Niederschlag. Beim Benzoylieren nach Baumann-Schotten erhält man einen festen Körper. Die frische Benzoylverbindung löst sich größtentheils in Äther auf. Wenn man die ätherische Lösung verdunsten ließ und den Rückstand mit Kali und Salpeter schmolz, hierauf mit Salzsäure mehrmals abrauchte, so konnte man in der so erhaltenen Salzlösung höchstens unwägbare Spuren von Bariumsulfat mittels Chlorbarium fällen.

Um unsere verschiedenen Präparate frei von dem schwer entfernbaren Ammonsulfat zu erhalten, giengen wir in der Weise vor, dass wir in einem Theile der vacuumtrockenen Substanz den Gehalt an Schwefelsäure bestimmten, hierauf die ganze Substanz in Wasser lösten und mit der berechneten

Menge Barytwasser in der Siedehitze die Schwefelsäure fällen. Die wässrige Lösung war nun frei von Schwefelsäure und Barium. Wir machten hiebei die Beobachtung, dass die ganz aschearmen Präparate, welche wir auf diese Weise erzielen konnten, und die früher, so lange sie noch Asche enthielten, im absoluten Alkohol sich lösten, selbst in siedendem Alkohol nur schwer löslich waren, dass also die Salze die Löslichkeit des Peptons der zweiten Fraction in Alkohol befördern.

#### **b) Darstellung des Peptons durch Alkohol und Äther.**

Die Verdauungsflüssigkeit wurde ohne Neutralisation im Vacuum zum Syrup verdampft, der Syrup mit 96 procentigem Alkohol aufgenommen, die alkoholische Lösung mit Äther gefällt, die Fällung in absolutem Alkohol gelöst und wieder mit Äther gefällt. Man erhält auf diese Weise eine Substanz, welche in Wasser leicht und klar löslich ist und sich als keineswegs hygroskopisch erweist. Die Lösung gibt mit Ammonsulfat keine Trübung. Die Substanz gibt weder die Molisch'sche, noch die Millon'sche, noch die Sulphydrylreaction, hingegen enthält sie noch festgebundenen Schwefel. Die Benzoylverbindung dieser Substanz erwies sich aber ebenfalls als schwefelfrei. Wenn man Witte-Pepton in der Weise verarbeitet, dass man es mit der vierfachen Menge absoluten Alkohols eine halbe Stunde lang am Rückflusskühler kocht, dann durch einen Heißwassertrichter filtriert und das Filtrat erkalten lässt, so trübt sich die Flüssigkeit und ein Niederschlag setzt sich ab. Dieser Niederschlag gibt in Wasser gelöst mit Ammonsulfat keine Fällung, erzeugt keine Kohlehydratreaction nach Molisch, ist frei von bleischwärendem Schwefel, doch gibt diese Substanz sowohl die Biurereaction, als auch die Reaction nach Millon. Die alkoholische Lösung hinterlässt nach dem Verdunsten eine Substanz, die ein Gemenge von zwei verschiedenen Körpern ist. Die eine Substanz lässt sich durch Ammonsulfat aussalzen, während die andere — das Pepton — in gesättigter Ammonsulfatlösung gelöst bleibt. Die ausgesalzene Albumose enthält ebenfalls keine Kohlehydratgruppe, wie es der negative Ausfall der Molisch-Reaction beweist.



Wenn man Eiweiß, statt mit Salzsäure, mittels Phosphorsäure verdaut hierauf mit kohlensaurem Kalk neutralisiert und nach dem Alfiltrieren die Lösung eindampft und das Pulver, welches man beim Trocknen erhält, in der Kälte mit 96 procentigem Alkohol schüttelt, den Alkohol aus der Peptonlösung abdestilliert und den Rückstand mit Alkohol aufnimmt, so erhält man ein durch Ammonsulfat nicht fällbares Pepton, welches die beiden beschriebenen Fractionen enthält, da es die Millon'sche Reaction in exquisiter Weise gibt. Hingegen zeigt dieses Pepton keine Kohlehydratreaction. Es enthält aber noch festgebundenen Schwefel.

Auch dieses durch Verdauung mit Phosphorsäure dargestellte Pepton lässt sich durch Benzoylieren von der anhängenden schwefelhaltigen Substanz befreien.

Bei allen unseren Prüfungen auf Schwefelgehalt wurden 3 bis 4 g der Benzoylverbindung mit Kali und Salpeter geschmolzen, die Schmelze in Salzsäure gelöst und mehrmals mit Salzsäure auf dem Wasserbade abgedampft. Selbst nach mehrtägigem Stehen der mit Chlorbarium versetzten verdünnten Lösung setzten sich nur Spuren von Bariumsulfat ab.

---

Für die Theorie der Verdauung sind unsere Befunde von großem Interesse.

Es ist uns gelungen zu zeigen, dass das sogenannte Amphopepton ein Gemenge von vier Körpern ist, die chemisch ganz different sind, welche aber alle zusammengenommen nur die Reactionen einiger im Eiweiß enthaltener Gruppen zeigen, keineswegs aber aller. Daraus geht hervor, dass gar keine Möglichkeit besteht, das gesammte Eiweißmolecül in Pepton zu verwandeln, dass also einige Albumosen ebenso Endproducte der Verdauung sind wie die unter »Pepton« verstandenen Körper.

Es wird daraus auch verständlich, warum man bei allen Verdauungsversuchen so große Mengen von Albumosen und relativ wenig Pepton erhält, während man ja das Gegentheil nach der Kühne'schen Theorie erwarten müsste.

Die Anschauung von Kühne und Neumeister, dass die Albumosen Zwischenstufen der Verdauung, Pepton aber das Endproduct, lässt sich nicht weiter aufrecht erhalten. Ein solcher Unterschied besteht zwischen Pepton und Albumosen nicht.

Es entsteht aus dem Eiweiß durch Verdauung mit Pepsin und Salzsäure nicht etwas Gleichartiges, das Pepton, sondern das Eiweißmolecül wird durch diese hydrolytische Spaltung in chemisch ganz differente Bruchstücke aufgespalten, die chemisch verschiedene Theile (Gruppen) des Eiweißmolecüles enthalten.

Es wird uns durch eine solche Auffassung klar, dass der Zweck der Verdauung nicht etwa der ist, Eiweiß in Lösung zu bringen, wie man zuerst angenommen, oder in gleichmäßige Bruchstücke zu verwandeln, sondern der Organismus zerlegt durch die peptische (und tryptische) Verdauung das Eiweißmolecül soweit, dass dann die Möglichkeit geboten ist, aus diesen Bruchstücken etwas Neues, und zwar die dem Organismus eigenthümlichen Eiweißkörper aufzubauen.

Wie aus den neueren Untersuchungen der Hofmeister'schen Schule, Kossels und Kutschers, hervorgeht, enthalten die verschiedenen Eiweißkörper thierischen und pflanzlichen Ursprunges von den letzten Spaltungsproducten des Eiweißes sehr differente Mengen. Einmal ist Tyrosin reichlich in den Spaltungsproducten zu finden, ein anderesmal in sehr geringen Mengen. Ebenso wechseln die schwefelhaltigen Spaltungsproducte in ihrer Quantität in den einzelnen Eiweißkörpern sehr ab. Viele Eiweißkörper enthalten die Albamingruppe, ein so wichtiges Nahrungsmittel wie das Casein enthält keine Spur von diesem Kohlehydratcomplex. Auch die Hexonbasen weisen bedeutende Differenzen in der Quantität auf, mit welcher sie sich an dem Aufbaue der verschiedenen Eiweißkörper betheiligen.

Trotzdem wird aus diesen verschiedenen, dem Organismus als Nahrung zugeführten Eiweißkörpern immer etwas gleichmäßig Gebautes und bei wechselnder Nahrung Identisches geschaffen: die dem betreffenden Organismus eigenthümlichen Eiweißkörper. Wir sehen also, dass der Vorgang der Verdauung zu vergleichen ist dem Zusammenreißen eines großen Gebäudes, aus dessen einzelnen Bestandtheilen ein neues

Gebäude, aber mit einer anderen Architektonik aufgebaut werden soll. Auch hier werden nicht nur Segmente des Gebäudes anders gestellt, sondern alles völlig abgebrochen und aus den einzelnen verwertbaren Bestandtheilen, welche in den neuen Plan passen, etwas Neues aufgebaut.

Eine solche Anschauung über das Wesen der Verdauung hat zur Voraussetzung, dass in der Darmwandung eine so complicierte Synthese wie die eines neuen Eiweißkörpers aus den tiefsten Spaltungsproducten der verschiedenen dem Organismus als Nahrungsmittel zugeführten Eiweißkörper vor sich geht. Sie allein kann uns aber erklären, warum unser Organismus Eiweißkörper, wie z. B. die Pflanzenglobuline, bei denen die quantitativen Verhältnisse der einzelnen Spaltungsproducte von denen der thierischen Eiweißkörper stark differieren, so schlecht ausnützt. Ferner wird es uns erklärlich, warum Albumoide wie der Leim, dem die Tyrosingruppe fehlt, trotz der leichten Verdaulichkeit in unserem Organismus, trotz des sonst ähnlichen Baues, nicht die Rolle eines Eiweißkörpers spielen kann und Eiweiß in der Nahrung nicht zu ersetzen vermag.

---