

## XXII.

# Ueber die Bindung der Salzsäure durch Amidosäuren.

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts zu Berlin.)

Von Prof. E. Salkowski.

In einer kürzlich in diesem Archiv Bd. 122 S. 235 (1890) erschienenen Arbeit „Ueber den Begriff der freien und gebundenen Salzsäure im Magensaft“ habe ich u. A. über Versuche berichtet, welche Kumagawa auf meine Veranlassung über die Frage angestellt hat, ob die Amidosäuren, wie das Leucin, Glycocoll u. s. w. im Stande sind, Salzsäure zu binden, d. h. für den Verdauungsact unwirksam zu machen. Im Gegensatz zu Klemperer, der dieses für unzweifelhaft hielt, waren wir zu dem Resultat gelangt, dass angemessen verdünnte Lösungen von salzsaurem Leucin, wenn sie Pepsin enthalten, eben so gut Eiweiss verdauen, wie eine gleich verdünnte, dieselbe Quantität Pepsin enthaltende, Salzsäure.

Dieser Schluss hat kürzlich von zwei Seiten Anfechtung erfahren, einerseits von Th. Rosenheim<sup>1)</sup>, andererseits von F. A. Hofmann<sup>2)</sup>. Rosenheim sagt im Eingang seiner Mittheilung: „Ich habe die Versuche von Salkowski wiederholt, bin aber zu etwas anderen Resultaten, als dieser Autor, gelangt. Wenn Klemperer angenommen hatte, dass Leucin-Chlorhydrat-Lösungen mit Pepsin Eiweiss nicht verdauen, so war er, wie Salkowski erwiesen hat, im Irrthum und ich bin nur in der Lage, dieses zu bestätigen. Wenn aber Salkowski aus seinen Versuchen den Schluss zieht, dass angemessen verdünnte Lösungen von salzsaurem Leucin mit Pepsin versetzt, eben so gut Eiweiss verdauen, wie eine gleich concentrirte, dieselbe Quantität ent-

<sup>1)</sup> Centralbl. f. klin. Med. 1891. No. 39.

<sup>2)</sup> Ebendas. No. 42. Beiden Autoren bin ich für die freundliche Uebersendung von S. A. zu bestem Dank verpflichtet.

haltende Salzsäure, so geht er, wie ich glaube, zu weit. Stellt man die Versuche so an, dass man erst nach 20 und mehr Stunden in den beiden Proben den Fortschritt der Verdauung controlirt, so findet man ihn in beiden auch gleich, nemlich die Verdauung ist in beiden am Ende, — untersucht man aber diese Gemische schon früher, also nach 2, 3, 5, 8 Stunden, wie ich es mehrfach gethan habe, so überzeugt man sich, dass die Verdauung ungleichmässig fortschreitet und zwar erheblich langsamer in denjenigen, in welchen sich die Amidosäure befindet. Die folgenden Versuche lehren dieses.“

Gegen diese Ausführungen habe ich Verschiedenes einzuwenden.

Rosenheim sagt selbst, dass er nach 20 oder mehr Stunden die Verdauung in den Amidosäure-haltigen Mischungen ebenso weit vorgeschritten d. h. am Ende gefunden habe wie in der Amidosäure-freien, bestätigt also die Angaben von Kumagawa. Damit steht nun der Satz, dass er die Versuche von mir — sie sind übrigens nicht von mir, sondern von Kumagawa angestellt, jedoch übernehme ich gern die Vertretung derselben — wiederholt habe, aber zu etwas abweichenden Resultaten gelangt sei, im Widerspruch. Seine „abweichenden“ Resultate beziehen sich auf Versuche, die ich gar nicht als eine „Wiederholung“ der unserigen anerkennen kann. Wenn man die Zeit der Digestion so erheblich kürzer wählt, so ist das eben ein ganz anderer Versuch, der mit den unserigen gar nichts zu thun hat. Es kann mir nun keineswegs gleichgültig sein, ob ein Autor meine Angaben bei Wiederholungen bestätigt oder nicht, ob sie zuverlässig erscheinen oder nicht. Die Einwendungen von Rosenheim beziehen sich im Grunde genommen also gar nicht auf die Versuche, gegen die er nichts einzuwenden hat, sondern sie sind eigentlich gegen die Schlussfolgerung gerichtet, die ich aus den Versuchen gezogen habe. Rosenheim ist der Ansicht, dass man aus Versuchen von 22 Stunden Dauer, wenn sie denselben Endeffect haben, nicht schliessen könne, dass die Amidosäuren ohne Einfluss auf die Verdauung sind. Nun, ich habe diesen Schluss auch nicht aus dem Resultat der quantitativen Untersuchung nach 22 Stunden allein gezogen, sondern wir haben auch angegeben, dass in der Schnelligkeit der

Auflösung bei qualitativen Proben kein Unterschied zu bemerken war, mochte die Mischung Amidosäure enthalten oder nicht.

Gerade dem Erfolge der einfachen Beobachtung gegenüber erschien mir die starke Bindung der Salzsäure durch Amidosäure, die Rosenheim in seinen quantitativen Versuchen von kurzer Dauer gefunden hat, so auffallend, dass ich mich entschloss, gleichfalls Versuche von kurzer Dauer anzustellen. Ehe ich über diese berichte, möchte ich aber doch die Wahl der längeren Versuchsdauer — 22 Stunden — meinerseits rechtfertigen. Diese Rechtfertigung liegt in Folgendem. Ein Verdauungsversuch ausserhalb des Körpers bleibt unter allen Umständen die Nachahmung eines physiologischen Vorganges, welche sich, soweit dieses geschehen kann, ohne die Ausführbarkeit des Versuches allzusehr zu beeinträchtigen, den Bedingungen im Körper anzuschliessen hat. Es kann nun keinem Zweifel unterliegen, dass ein künstlicher Verdauungsversuch doch immer nur eine sehr dürftige Nachahmung des physiologischen Vorganges ist. Man versuche nur einmal, eine grössere Quantität gebratenes und dann gehacktes Fleisch künstlich zu verdauen, eine Aufgabe, mit welcher der gesunde Magen in einigen Stunden fertig wird. Die Ursachen für dieses Zurückbleiben der künstlichen Verdauung gegen die natürliche liegen auf der Hand. Die fortdauernde Bewegung des Magens, die fortdauernde Resorption der gebildeten Verdauungsproducte, die während der Verdauung andauernde Secretion von Salzsäure und Pepsin — alle diese Momente begünstigen den Verdauungsprozess im Magen so sehr, dass dagegen auch die wirksamste künstliche Verdauungsflüssigkeit gar nicht aufkommt. Wir haben nur ein Mittel, diese günstigeren Bedingungen im Magen einigermassen zu compensiren, das ist die Verlängerung der Zeitdauer der Digestion. Wir haben also eine längere Zeit der Digestion gewählt, um uns den physiologischen Verhältnissen mehr zu nähern, dagegen muss zugegeben werden, dass zur Entscheidung der theoretischen Frage, ob die Amidosäuren im Stande sind, Salzsäure zu binden, für den Verdauungsact unwirksam zu machen, auch Versuche mit kurzer Dauer der Digestion erforderlich sind, Versuche mit längerer Dauer der Digestion allein hierzu nicht ausreichen.

Rosenheim hat nun, wie erwähnt, derartige Versuche mit kurzer Dauer der Digestion angestellt und ist zu dem Resultat gekommen, dass pepsinhaltiges salzsaures Leucin bzw. Glycocoll nicht eben so gut verdauen, wie die entsprechende Salzsäure, sondern schlechter. Rosenheim hat nicht berechnet, um wieviel schlechter, ich möchte diese Berechnung nach den von ihm angeführten Zahlen ausführen. Rosenheim hat in seinen Versuchen getrennt bestimmt: 1) die Quantität des ungelöst gebliebenen Eiweiss (Fibrin), 2) die Quantität des lediglich gelösten, aber nicht peptonisirten Eiweiss (Acidalbumin oder Syntonin, 3) die Quantität der gebildeten Albumose + Pepton. Zur Erleichterung der Berechnung darf ich wohl die beiden ersten Grössen addiren, da sie beide unverändertes Eiweiss darstellen.

In dem Versuch Rosenheim's, welcher das Leucin betrifft, sind die Zahlen folgende:

I. Mischung ohne Leucin. a) Unverdautes Eiweiss: 0,55 + 0,45 = 1,00 g. b) Albumose + Pepton 3,00 g — Summe von a + b = 4,00 g.

II. Mischung mit Leucin. a) Unverdautes Eiweiss: 1,83 + 0,42 = 2,25 g. b) Albumose + Pepton 1,50 g — Summe von a + b = 3,75 g.

An diesen Zahlen ist nun Manches auffallend. Zunächst ist es auffällig, dass Rosenheim die Wägungen bzw. Berechnungen nicht bis auf die dritte Decimale ausgeführt, sondern sich mit Centigrammen begnügt hat, was kaum zulässig erscheint. Weiterhin sollte die Summa des Eiweiss + Albumose + Pepton in beiden Mischungen annähernd gleich sein, da ja für beide Mischungen dieselbe Quantität Fibrin = 10 g feucht angewendet ist. Das ist aber nicht der Fall, die Differenz ist vielmehr recht erheblich. Nimmt man die Mischung ohne Leucin als die Norm an, so fehlen in der leucinhaltigen Mischung 0,25 g = 6,25 pCt. Beide Werthe aber „4,0 und 3,75“ bleiben nicht unerheblich gegen den Trockengehalt des angewendeten Fibrins = 4,15 g zurück, von dem allerdings noch eine kleine Quantität als Aschengehalt in Abzug zu bringen wäre.

Nach seinen Zahlen sind verdaut:

I. In der Mischung ohne Leucin von 4,0 g. 3,0 g = 75 pCt.

II. In der Mischung mit Leucin von 3,75 g. 1,50 g = 40 pCt.

Setzt man die im Normalversuch (ohne Leucin) verdaute Quantität = 100, so sind bei Gegenwart von Leucin nur verdaut 53,3, die Störung durch die Gegenwart von Leucin ist also eine recht erhebliche.

Ich stellte nun zunächst einige qualitative Versuche mit leucinhaltigem künstlichem Magensaft an. Wie in vielen meiner früheren Versuche und ebenso, wie Rosenheim, benutzte ich Finzelberg'sches Pepsin und zwar in der stets festgehaltenen Quantität von 2 g auf 1 Liter Verdauungssalzsäure (10 ccm der officiellen Salzsäure auf 1 Liter verdünnt). Das Pepsin wurde mit Wasser bis zum Verschwinden des Milchzuckers gewaschen, dann in einen Kolben gespritzt<sup>1)</sup>, mit 300—400 ccm der Verdauungssalzsäure übergossen, 24 Stunden bei 40° gehalten, filtrirt, das Filtrat zu dem grösseren Rest der Salzsäure hinzugegeben. In 50 ccm dieses künstlichen Magensaftes wurden 0,5214 g Leucin<sup>2)</sup> entsprechend 0,5043 g reinem trockenen Leucin gelöst. Diese Quantität entspricht 0,1405 HCl = 1 Mol. Leucin auf ein Mol. HCl. Um sicher zu sein, dass die angewendete Verdauungssalzsäure wirklich 0,281 g HCl in 100 ccm enthält, bestimmte ich das specifische Gewicht der angewendeten Salzsäure, es ergab sich zu 1,124, der obigen Voraussetzung entsprechend. Da im vorliegenden Versuche das Pepsin mit Wasser abgespritzt war, so war die Verdauungssalzsäure etwas verdünnt, es waren also etwas mehr, als die der Salzsäure äquivalente Quantität Leucin in der Mischung vorhanden. Das Leucin wurde in einem Schälchen abgewogen, der grösste Theil direct in den trockenen Versuchskolben geschüttet, der Rest mit einem Theil der 50 ccm Verdauungssalzsäure zweimal nachgespült. Das Leucin wurde durch anhaltendes Schütteln, natürlich ohne Erwärmen, gelöst. Ebenso ist der leucinhaltige künstliche Magensaft für die erste quantitative Versuchsreihe mit Leucin hergestellt.

<sup>1)</sup> In den folgenden Versuchen ausser in Versuchsreihe I ist das feuchte Pepsin mit der Verdauungssalzsäure selbst abgespritzt: die in I entstandene Verdünnung der Salzsäure kommt nicht in Betracht.

<sup>2)</sup> Es wurde dasselbe Präparat benutzt, von welchem Kumagawa in den früheren Versuchen den Wasser- und Aschengehalt bestimmt hatte. 0,183 g desselben entsprechen 0,177 reinem Leucin.

In wiederholten qualitativen Versuchen, in denen Fibrin und genuine Verdauungsflüssigkeit einerseits, leucinhaltige andererseits zur Anwendung kam, gelang es mir nicht, mich von dem störenden Einfluss des Leucins durch einfache Beobachtung der in die Mischung eingebrachten Fibrinflocken zu überzeugen. Durchschnittlich war das Fibrin, selbst bei Anwendung von 1 g auf 10 ccm Flüssigkeit, in etwa 15 Minuten (bei 40°) bis auf geringe Reste aufgelöst.

Zur Anstellung des quantitativen Versuches wurde ein Kölbchen mit 50 ccm pepsinhaltiger Verdauungssalzsäure, ein anderes mit 50 ccm der gleichen Verdauungssalzsäure + Leucin beschickt, dann in jedes 5 g möglichst schnell abgewogenes feuchtes Fibrin gebracht und beide Kölbchen 5 Stunden bei 38° digerirt, dann schnell mit der erforderlichen, vorher ermittelten Quantität Viertelnormallauge neutralisirt, gekocht, mit Essigsäure schwach angesäuert und durch gewogene Filter heiss filtrirt. Die Filtration verlief sehr schnell, das Filtrat war ganz klar, trübte sich aber beim Erkalten ganz leicht (Kühne's Dysalbumose). Der Rückstand auf dem Filter wurde nach gründlichem Auswaschen bis zum constanten Gewicht getrocknet und gewogen. Filtrat und Waschwässer wurden eingedampft, auf 100 ccm aufgefüllt, in 25 ccm der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. Aus dem Stickstoff wurde die Quantität von Albumose + Pepton durch Multiplication mit 6,25 erhalten. Von einer getrennten Bestimmung des ungelösten Fibrins und des gelösten, noch fällbaren Eiweiss glaubte ich, absehen zu können.

Das Resultat war folgendes:

#### Versuchsreihe I.

	Unverändertes Eiweiss.	Albumose + Pepton.	Summe.
Mischung ohne Leucin	0,1710	1,0853	1,3563
- mit -	0,2334	1,0690	1,3024.

Somit ist von dem vorhandenen Eiweiss verdaut

ohne Leucinzusatz 85,53 pCt.

mit - 82,40 -

Setzt man den im Normalversuch (ohne Leucinzusatz) erhaltenen procentischen Werth = 100, so beträgt derselbe in der leucinhaltigen Mischung 96,34 pCt., während sich bei Rosenheim die entsprechenden Zahlen zu 100 und 53,33 berechnen.

Die qualitativen Versuche mit Glycocoll hatten ebenso wenig ein positives Resultat, wie die mit Leucin. Es kamen 0,587 g Glycocoll statt der berechneten 0,577 g auf 100 ccm künstlicher Verdauungsflüssigkeit zur Anwendung. Fibrinflocken wurden mit

gleicher Schnelligkeit gelöst, mochte die Verdauungsflüssigkeit Glycocoll enthalten oder nicht; auch als ich auf je 10 ccm Flüssigkeit 1 g zerschnittenes frisches Fibrin verwendete, war nach 15 bis 20 Minuten stets der bei Weitem grösste Theil gelöst, der Rest erschien bald in der einen, bald in der anderen Mischung etwas grösser.

Aus dem Versuch von Rosenheim mit Glycocoll<sup>1)</sup> berechnen sich folgende Verhältnisszahlen:

I. Im Controlversuch beträgt: a) die Quantität des unveränderten Eiweiss 0,071+0,18 = 0,251; b) die Quantität von peptonisirtem Eiweiss 0,603, zusammen 0,854.

II. Bei Zusatz von Glycocoll: a) unverändertes Eiweiss 0,270+0,13 = 0,40; b) Albumose+Pepton 0,39, zusammen 0,79<sup>2)</sup>.

Von dem vorhandenen Eiweiss ist somit verdaut:

im Normalversuch . . . 70,61 pCt.

bei Zusatz von Glycocoll 49,36 -

Setzt man die im Controlversuch (oder Normalversuch) verdaute Quantität = 100, so sind bei Glycocollzusatz verdaut 69,91. Der von mir angestellte Versuch lieferte wesentlich andere Resultate.

Um Zufälligkeiten mehr auszuschliessen, setzte ich dieses Mal und ebenso in allen folgenden Reihen je 2 Kölbchen mit künstlicher Verdauungsflüssigkeit ohne und mit Glycocoll an. Die Anstellung des Versuches war ein wenig abweichend und wohl noch etwas grössere Genauigkeit verbürgend. Die Lösung von Glycocoll in der künstlichen Verdauungsmischung (150 ccm) wurde vorher hergestellt und zwar in dem Verhältniss von 0,587 g (statt 0,577) auf 100 ccm. Von dieser Lösung wurden dann je 50 ccm mit der Pipette abgemessen und ebenso von der nicht mit Glycocoll versetzten Lösung. Für jeden Kolben kamen 5 g Fibrin in Anwendung; die Abwägung des Fibrins geschah möglichst schnell hinter einander. Im Uebrigen war die Versuchsanordnung wie im Leucinversuch. Die Digestion bei 38° dauerte 3½ Stunden unter häufigem Schütteln.

Das Ergebniss war folgendes:

<sup>1)</sup> Ich berücksichtige nur den einen Versuch „c“, da in b das Glycocoll nicht in äquivalenter Menge zugesetzt war.

<sup>2)</sup> Auch in dieser Versuchsreihe ist eine erhebliche Differenz zwischen den Einzelversuchen vorhanden; setzt man die in I wiedergefundene Quantität = 100, so fehlen in II fast 9 pCt.

## Versuchsreihe II.

	Unverändertes Eiweiss.	Albumose + Pepton.	Summe.
Normalversuch I . . .	0,1258 g	1,0623 g	1,1881 g
II . . .	0,1884 -	1,0064 -	1,1948 -
Mischung mit Glycocoll I	0,1616 -	0,9799 -	1,1415 -
II	0,1866 -	1,0106 -	1,1972 -

Im Mittel aller Versuche beträgt die Summe von Eiweiss + Pepton 1,1804 g. Das angewendete Fibrin enthielt 1,1951 Trockenrückstand. Die Uebereinstimmung ist bei einem so complicirten Versuch durchaus befriedigend.

Berechnen wir wiederum, wie viel von dem vorhandenen Eiweiss verdaut ist, so ergibt sich:

Normalversuch I . . .	89,41 pCt.	} Mittel 86,82 pCt.
II . . .	84,23 -	
Mischung mit Glycocoll I	85,84 -	} Mittel 85,12 pCt.
II	84,41 -	

Danach verhielt sich die in der Glycocollmischung verdaute Quantität Eiweiss zu der im Normalversuch verdauten wie 98,0:100. Aus diesen Zahlen wird schwerlich Jemand eine störende Wirkung des Glycocolls ableiten wollen. Trotz der starken Verkürzung der Zeitdauer der Digestion bis auf  $3\frac{1}{2}$  Stunden ist also das Resultat dasselbe geblieben: das Glycocoll hat — im Gegensatz zu dem Versuchsergebniss von Rosenheim — die Verdauung nicht gestört, die Salzsäure nicht gebunden. Wie ist nun die Differenz der Resultate zu erklären?

Wenn man die Zahlen von Rosenheim für das angewendete Fibrin näher betrachtet, so bemerkt man, dass sein Fibrin viel weniger wasserhaltig gewesen ist, wie das von mir angewendete.

Das von ihm im Leucinversuch angewendete Fibrin enthielt 41,5 pCt. Trockenrückstand, im Glycocollversuch sogar 44,25 organische Trockensubstanz [also noch etwas mehr aschehaltigen Trockenrückstand<sup>1)</sup>]. Das meinige enthielt im Glycocollversuch 23,9 pCt. Trockenrückstand, im Leucinversuch, in welchem der Trockenrückstand nicht direct bestimmt ist, berechnet er sich aus dem Resultat der beiden Bestimmungen zu 26,59 pCt. Ro-

<sup>1)</sup> Diese Zahlen sind ungewöhnlich hoch; ich habe wenigstens so hohen Trockengehalt an frisch dargestelltem Fibrin nie beobachtet.



senheim hat also — mit anderen Worten — auf dieselbe Quantität Verdauungsflüssigkeit erheblich mehr Eiweiss angewendet, wie ich. Es war denkbar, dass hierauf die Abweichung in den Resultaten zurückzuführen ist.

Um diese Vermuthung zu prüfen, stellte ich 2 weitere Versuchsreihen, III und IV, an. Ich habe mich bemüht, mich hinsichtlich des Verhältnisses zwischen Eiweiss und Verdauungsflüssigkeit den Angaben von Rosenheim möglichst zu nähern; eine vollständige Uebereinstimmung ist nicht zu erreichen, da man ja nicht im Voraus weiss, wie viel Wasser im Fibrin enthalten ist, es auch nicht im Voraus bestimmen kann, vielmehr genöthigt ist, möglichst gleichzeitig die zu den Verdauungsmischungen und zur Trockenbestimmung bzw. Stickstoffbestimmungen erforderlichen Quantitäten Fibrin abzuwägen.

Die Versuchsanordnung war dieses Mal in einigen Punkten eine etwas abweichende. Die Quantität der Verdauungslösungen wurde dieses Mal zu 100 ccm gewählt, auf 100 derselben wiederum 0,587 g Glycocoll. Die Versuche waren wiederum Doppelversuche, dagegen hielt ich die Bestimmung des ungelösten Eiweiss + Acidalbumin für entbehrlich und glaubte mich auf die N-Bestimmung im Filtrat zur Ermittlung von Albumosen + Pepton beschränken zu können. Ferner erschien es mir richtiger, auch den Eiweissgehalt des Fibrins durch N-Bestimmung nach Kjeldahl zu bestimmen, statt den Trockengehalt zu ermitteln, damit in beiden Fällen dieselbe Methode zur Anwendung kam. Für jeden der 4 Kolben wurden 18 g Fibrin genommen; dasselbe stammte von derselben Quantität, wie das zur Versuchsreihe II benutzte und war in der Zwischenzeit in mehrfach gewechseltem Chloroformwasser aufbewahrt gewesen: es erschien vollkommen frisch und von normaler Beschaffenheit. Der Stickstoffgehalt desselben betrug im Mittel von 2 Versuchen 21,82 pCt., die angewandten 18 g entsprachen somit 3,9276 g Eiweiss. Die Dauer der Digestion betrug  $4\frac{1}{4}$  Stunden. Das Filtrat vom Neutralisationsniederschlag wurde auf 200 ccm aufgefüllt, 25 ccm dienten zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl.

Die Ergebnisse waren folgende:

#### Versuchsreihe III.

	Albumose + Pepton.	in pCt. des angewendeten Eiweiss.	
Mischung ohne Glycocoll I	3,4329 g	87,41	} Mittel 89,65
- - - II	3,6090 -	91,89	
Mischung mit Glycocoll I	3,2176 -	81,92	} Mittel 81,53.
- - - II	3,1866 -	81,13	

Die Verdauung ist also in der Mischung ohne Glycocoll trotz der grösseren Quantität Fibrin nicht schlechter ausgefallen, wie im vorigen Versuch, sogar noch etwas besser, dagegen in der glycocollhaltigen Mischung schlechter. Setzt man wiederum die im Normalversuch verdaute Quantität  $(89,35) = 100$ , so beträgt die in der Glycocollmischung verdaute Quantität nur 90,97 oder rund 91 pCt. Dass in diesem Fall das Glycocoll störend gewirkt hat, ist nicht zu bezweifeln, aber auch in diesem Versuch, welcher dem von Rosenheim möglichst angepasst war, ist die hemmende Wirkung gering und weit geringer, als in den Versuchen von Rosenheim.

In ganz analoger Weise habe ich dann noch einen Versuch mit Leucin angestellt. Die Quantität der Verdauungsflüssigkeit betrug in diesem Fall nur 50 ccm, die Quantität des (reinen) Leucins 0,5093 g statt der berechneten 0,5043 g. Es kam dasselbe Leucin in Anwendung, wie in dem früheren Versuch und zwar mit Berücksichtigung des Wassergehaltes und Aschengehaltes 0,5266 g = 0,05443 g N. Die Quantität des Fibrins betrug für jedes Kölbchen 8 g. Dasselbe enthielt im Mittel 23,38 pCt. Eiweiss = 1,8704 g. Die Digestion dauerte  $4\frac{1}{2}$  Stunden.

Die erhaltenen Zahlen sind folgende:

#### Versuchsreihe IV.

	Albumosen + Pepton.	In pCt. des angewendeten Eiweiss.	
Mischung ohne Leucin I	1,4649	78,32	} Mittel 78,4
- - - II	1,4677	78,47	
Mischung mit Leucin I	1,3730	72,27	} Mittel 72,02.
- - - II	1,3428	71,79	

Setzt man die im Normalversuch ohne Leucinzusatz erhaltene Quantität Albumose + Pepton = 100, so ist in der leucinhaltigen Mischung 91,84 Eiweiss peptonisirt, also fast genau dieselbe relative Quantität, wie im 2. Glycocollversuch (Versuchsreihe III).

In nachfolgender Tabelle sind der Uebersicht halber die in den einzelnen Versuchen gefundenen Mittelwerthe nochmals zusammengestellt.

No. der Versuchsreihe.	Welche Amidosäure angewendet ist.	Dauer der Digestion.	Quantität des verdauten Eiweiss (Albumosen + Pepton) in Procenten des angewendeten Eiweiss (im Mittel).	Das verdaute Eiweiss in d. Normalversuch a = 100 gesetzt, ist in den Mischungen mit Amidosäure verdaut.
I.	Leucin	5 Stunden	a) ohne Zusatz <sup>1)</sup> 85,53 b) mit Zusatz 82,40	96,3 pCt.
II.	Glycocoll	3½ -	a) ohne Zusatz 86,82 b) mit Zusatz 85,12	98,0 -
III.	Glycocoll	4¼ -	a) ohne Zusatz 89,65 b) mit Zusatz 81,53	91,0 -
IV.	Leucin	4¼ -	a) ohne Zusatz 72,02 b) mit Zusatz 78,40	91,8 -

An der partiellen Bindung der Salzsäure durch die Amidosäure ist danach wohl nicht zu zweifeln, allein ihre Wirkung erscheint nach meinen Versuchen erheblich geringer, wie nach denen von Rosenheim. Man könnte wohl daran denken, dass die Wirkung der Amidosäure dann mehr hervortritt, wenn die Verdauungsflüssigkeit aus irgend welchen Gründen weniger wirksam ist. Für den Glycocollversuch könnte dieses zutreffend erscheinen. Bei Rosenheim wurde in der zugehörigen Mischung ohne Glycocoll 70,61 pCt. das vorhandene Eiweiss peptonisirt, bei mir in der ersten Versuchsreihe 86,82 pCt., in der zweiten 89,65 pCt. Für den Leucinversuch trifft es nicht mehr ganz zu. In Rosenheim's Versuch mit Leucin sind in der leucinfreien Mischung 75 pCt. des vorhandenen Eiweiss peptonisirt, bei mir in dem ersten Versuch 85,53 pCt., in dem zweiten aber auch nur 78,47. Der Unterschied ist also in dem letzten Fall nur gering und trotzdem die verzögernde Wirkung des Leucins bei Rosenheim sehr viel ausgesprochener. Wovon die Verschiedenheit der Versuchsergebnisse von Rosenheim und mir abhängt, vermag ich nicht zu sagen. Was das Leucin betrifft, so liegt es nahe, an die Erklärungsmöglichkeit zu denken, dass wir nicht dieselbe, sondern isomere Substanzen angewendet haben; es giebt bekanntlich verschiedene Leucine, die sich vielleicht verschieden verhalten mögen. Allerdings liefern die am meisten benutzten Darstellungsmethoden: die Trypsinverdauung von Fibrin — das Kochen von Eiweiss oder elastischem Gewebe mit

<sup>1)</sup> sc. von Amidosäure.

verdünnter Schwefelsäure und die Einwirkung von Ammoniak auf  $\alpha$ -Bromcapronsäure, soviel bekannt ist, dasselbe Leucin. Für das Glycocoll vollends besteht diese Erklärungsmöglichkeit nicht, denn es giebt der Theorie nach nur eine Amidoessigsäure, es ist also gleichgültig, aus welchem Material und auf welchem Wege dasselbe hergestellt ist. Ich muss somit eine Erklärung für den quantitativen Unterschied des Resultates schuldig bleiben, habe aber schon weiter oben bemerkt, dass die Versuche von Rosenheim manchen Einwürfen betreffs ihrer Genauigkeit Raum geben.

Noch ein Umstand verdient eine kurze Erwähnung. Die beiden letzten Versuchsreihen III und IV zeigen eine erhebliche Differenz hinsichtlich der Quantität des in den Normalversuch ohne Zusatz von Amidosäure peptonisirten Eiweiss. Obwohl in dem Leucinversuch etwas weniger Fibrin zur Anwendung kam — nemlich in 2 Einzelversuchen 16 g auf 100 ccm Verdauungsflüssigkeit gegen 36 g auf 200 ccm im Glycocollversuch —, sind doch in der Reihe IV nur 78,40 pCt. peptonisirt, in Reihe III dagegen 89,35 pCt. Zu beiden Reihen wurde dasselbe Fibrin und dieselbe Verdauungsflüssigkeit angewendet. Die Ursache der Differenz ist aller Wahrscheinlichkeit nach darin zu suchen, dass in der Glycocollreihe die Verdauungsflüssigkeit unmittelbar nach ihrer Fertigstellung zur Anwendung kam, die Leucinreihe aber erst 5 Tage später mit derselben Verdauungsflüssigkeit angestellt wurde. Augenscheinlich hat das Pepsin in der salzsauren Lösung durch fünftägiges Stehen eine Abschwächung erfahren. Man wird dieser Thatsache künftig Rechnung tragen müssen. Sie lässt eine Aufbewahrung von Pepsinpräparaten in saurer Lösung, namentlich zu therapeutischen Zwecken nicht rathsam erscheinen. Ob und in wieweit auch organische Säuren diesen Einfluss haben, muss noch untersucht werden.

Das zweite mit unseren Beobachtungen in Widerspruch stehende Resultat ist, wie bereits im Eingang der Arbeit erwähnt, von F. A. Hoffmann veröffentlicht worden. Hoffmann hat nicht Fibrin, sondern Plättchen von geronnenem Hühnereiweiss von gleicher Grösse genommen und ausserdem durch gleichmässige Bewegung der Verdauungsmischung dafür gesorgt, dass

die Bedingungen für die Einwirkung der verdauenden Flüssigkeit in allen Mischungen möglichst dieselben waren. Eine Angabe über die Zeit der Digestion ist nicht gemacht. Hoffmann fand unter diesen Umständen eine ausserordentlich starke Hemmung durch den Zusatz von Glycocoll. In seinen Versuchen fand sich in der glycocollfreien Mischung nach einer bestimmten Zeit 36 Mal soviel Albumosen + Pepton (vermuthlich durch N-Bestimmung ermittelt), wie in den Glycocoll enthaltenden. Auf die Zahl legt Hoffmann vorläufig keinen besonderen Werth, die Hemmung ist aber offenbar eine ausserordentlich grosse.

Wir haben Versuche mit Eialbumin früher nicht gemacht, ich war also nicht gerade direct genöthigt, die Versuche von Hoffmann zu wiederholen, es lag aber nahe, da ich einmal mit dem Gegenstande beschäftigt war.

Da ich nicht über die Versuchseinrichtungen disponirte, um die Versuche in der von Hoffmann gewählten Form, d. h. mit stundenlanger gleichmässiger Bewegung bei gleichbleibender Temperatur auszuführen, so wählte ich flüssiges Hühnereiweiss an Stelle des coagulirten<sup>1)</sup>. Damit ist der Haupteinwand Hoffmann's gegen die übliche Form der Anstellung der Versuche, nemlich, dass das feste Eiweiss ungleichmässig angegriffen wird, beseitigt. Da in der Flüssigkeit die Albumosenbildung an allen Stellen gleichzeitig und gleichmässig vor sich geht, so ist ein Umschütteln der Kolben nicht erforderlich, und es kann von einem ungleichmässigen Angegriffenwerden des Eiweiss meiner Ansicht nach, nicht die Rede sein. Etwaige dennoch eintretende Ungleichmässigkeiten lassen sich durch das übliche zeitweise Umschütteln oder Umschwenken jedenfalls mit Sicherheit beseitigen. Dass die Gefahr der ungleichmässigen Verdauung übrigens factisch, wenigstens beim Fibrin, nicht so gross ist, wie man es theoretisch annehmen sollte, zeigen die obigen Doppelversuche zur Genüge. Zur Erleichterung der Uebersicht habe ich die entsprechenden Werthe nochmals in der folgenden kleinen Tabelle zusammengestellt, welche sich darauf beschränkt, das peptonisirte Eiweiss in Procenten des vorhandenen bzw. angewendeten anzugeben.

<sup>1)</sup> Wenn mich meine Erinnerung nicht täuscht, sind die Vorzüge des flüssigen Eiweiss schon einmal hervorgehoben worden, es ist mir jedoch nicht gelungen, den Autor aufzufinden.

	Vom angewendeten Eiweiss ist peptonisirt in pCt.		Abweichung vom Mittel.
	Einzelsversuch.	Mittel.	
Glycocollversuch I ohne Glycocoll	{ a) 89,41 b) 84,23 }	86,82	2,59
Derselbe mit Glycocoll . . . .	{ a) 85,84 b) 84,41 }	85,12	0,72
Glycocollversuch II ohne Glycocoll	{ a) 87,41 b) 91,89 }	89,65	2,24
Derselbe mit Glycocoll . . . .	{ a) 81,92 b) 81,13 }	81,53	0,39
Leucinversuch ohne Leucin . .	{ a) 78,32 b) 78,47 }	78,40	0,08
Derselbe mit Leucin . . . . .	{ a) 72,27 b) 71,79 }	72,02	0,25

Allerdings ist nicht zu bezweifeln, dass das coagulierte Eiweiss durchaus nicht so günstige Bedingungen bietet, wie das Fibrin, welches von vorneherein ein weit grösseres Volumen einnimmt und gleichmässig aufquillt, während das Eiweiss nur von den Kanten her angenagt und aufgelöst wird. Ja es kann selbst die gebildete Albumoselösung zu Boden sinken und das Eiweiss gewissermaassen einhüllen, falls man überhaupt nicht schüttelt; ich gebe auch zu, dass die erreichte Genauigkeit in den obigen Versuchen vielleicht nicht durchweg vollkommen befriedigend ist.

Das zu dem Versuch dienende Hühnereiweiss wurde in folgender Weise vorbereitet.

Etwa 100 ccm frisches Hühnereiweiss wurde mit ungefähr dem gleichen Volumen Wasser durchgeschüttelt, mit Salzsäure genau neutralisirt, durch Leinewand colirt, die anfangs trübe Flüssigkeit nochmals zurückgegossen. Es resultirte eine von allen sichtbaren Flocken freie, schwach opalisirende Flüssigkeit.

In 4 Kolben wurde nun je 50 ccm Verdauungsflüssigkeit gebracht, in 2 davon ausserdem je 0,2935 g Glycocoll, dann zu jedem Kolben 20 ccm der obigen Eiweisslösung. Die Digestion bei 38—39° dauerte 4½ Stunden. Die Verarbeitung der Mischungen war so, wie in Versuchsreihe I und II.

Zur Ermittelung des Eiweissgehaltes der angewendeten Lösung wurden 2 Antheile von 20 ccm mit 10 ccm Schwefelsäure und etwas Kupfersulfat erhitzt. Die Erhitzung muss anfangs mit grosser Vorsicht geschehen, sonst geht die Bestimmung leicht durch Schäumen verloren. Zweckmässig giesst man, nachdem die Erhitzung etwa eine Stunde oder länger gedauert hat,

noch 15 ccm erhitzte Schwefelsäure hinzu. Nach Vollendung der Oxydation, die sogar ohne Zusatz von Kaliumpermanganat erreichbar ist, wurde die Lösung verdünnt, erkalten gelassen, in einen Messkolben gebracht und auf 100 ccm aufgefüllt. 25 ccm der gut durchgeschüttelten Lösung dienten zur Bestimmung des Ammoniak. Im Mittel von 2 Bestimmungen enthielten die angewendeten 20 ccm Lösung 1,1532 g Eiweiss.

Das Resultat der Versuchsreihe war folgendes:

#### Versuchsreihe V.

		Unverändertes Eiweiss.	Albumose + Pepton.	Summe.
Mischung ohne Glycocoll	I	0,6049	0,5591	1,1640
- - -	II	0,6130	0,5423	1,1553
- mit -	I	0,7847	0,3956	1,1803
- - -	II	0,8052	0,3676	1,1728

Die Summe von unverdaulichem Eiweiss, Albumose und Pepton sollte der angewandten Quantität Eiweiss gleich sein. Im Mittel der 4 Versuche beträgt sie 1,1681 g gegenüber 1,1532 angewendeten; der Fehler ist gering und beruht vielleicht zum Theil darauf, dass der zur Berechnung des Eiweiss aus dem N-Gehalt angewendete Factor 6,25 für Hühnereiweiss etwas zu niedrig ist. Damit steht auch in Einklang, dass die Summen in den beiden Versuchen, in denen ein grösserer Antheil des Eiweiss direct gewogen ist, höher ausfällt, wie in den anderen.

Berechnen wir, wieviel von dem in den einzelnen Versuchen enthaltenen Summen der Albumose + Pepton vorhanden war, so ergibt sich

Mischung ohne Glycocoll	I	48,03	} Mittel 47,49
- - -	II	46,94	
- mit -	I	33,52	} Mittel 32,43
- - -	II	31,34	

Diese Zahlen lassen allerdings keinen Zweifel daran, dass das Glycocoll die Verdauung des Hühnereiweiss gestört hat. Setzt man die im Normalversuch verdaute Quantität = 100, so sind bei Glycocollzusatz verdaut 68,29 pCt., als nur wenig über  $\frac{2}{3}$ . Freilich steht diese Hemmung immer noch ganz ausser Verhältniss zu der enormen von Hoffmann gefundenen Behinderung (nur etwa  $\frac{1}{3}$  verdaut!). Worin dieser Unterschied begründet ist, vermag ich nicht anzugeben. Bezüglich der Quantität des in den gleichartigen Mischungen verdaulichem Eiweiss sollte man

eine noch grössere Uebereinstimmung erwarten. Es ist mir wahrscheinlich, dass die Unterschiede auf nicht vollkommen gleicher Temperatur der Mischungen beruhen und dass die Uebereinstimmung grösser sein würde, wenn man die Kolben mit den Mischungen nicht, wie üblich, im Luftbad, sondern in einem möglichst grossen Wasserbade von constanter Temperatur stehen lassen würde.

Versuchen wir zum Schluss die vorliegenden Beobachtungen über den Einfluss, welchen die Amidosäure auf die Salzsäure hinsichtlich ihrer physiologischen Function ausüben, zusammenzufassen.

Sicher ist es nach allen vorliegenden Versuchen nicht mehr gestattet, zu sagen, dass die Gegenwart von Amidosäuren in Verdauungsmischungen für den Ablauf der Verdauung bedeutungslos ist — diese theoretisch sehr interessante Thatsache haben Rosenheim und Hoffmann ermittelt und ich kann sie bestätigen —, ebenso unrichtig wäre es aber auch, ganz allgemein zu sagen, dass die Amidosäuren Salzsäuren binden und die Verdauung stören, da sie dieses nur unter bestimmten Verhältnissen thun. Man könnte dem Thatbestand etwa in folgender Weise Ausdruck geben:

Die Amidosäuren sind unter günstigen Verhältnissen bei Anwendung von Fibrin in nicht zu grosser Quantität ohne Einfluss auf die Pepsinverdauung, also auf die Salzsäure, selbst dann, wenn die Verdauungszeit bis auf wenige Stunden abgekürzt wird, sie können aber einen verzögernden Einfluss ausüben, also Salzsäure binden, wenn bei gleichzeitiger Abkürzung der Verdauungszeit die Quantität des Fibrins soweit gesteigert wird, dass auf 100 g Verdauungsflüssigkeit etwa 3 g trocknes Eiweiss oder mehr kommen oder wenn ein schwerer verdauliches Substrat — Hühnereiweiss — angewendet wird. Die Störung hält sich nach meinen Versuchen stets in mässigen Grenzen, so dass von Fibrin, auch wenn man viel davon anwendet, mehr als  $\frac{2}{10}$ , bei Anwendung von Hühnereiweiss mehr als  $\frac{2}{3}$  des normalen verdaut wird.

Die Quantität des Verdauungssubstrates im Verhältniss zur Verdauungsflüssigkeit ist ein neues complicirendes Moment, das bisher wohl in Versuchen über die Verdauungstüchtigkeit ver-



schiedener Pepsinsorten des Handels, nicht aber in Versuchen über störende Einflüsse berücksichtigt worden ist und doch — wie aus meinen Versuchen hervorgeht — in methodischer Weise berücksichtigt werden muss, da die Beantwortung der Frage bezüglich des störenden Einflusses verschieden ausfallen kann, je nachdem mehr oder weniger Eiweiss zur Anwendung gelangt.

### Analytische Beläge.

Zu allen Versuchen diente Viertelnormalsäure, ferner zu allen Versuchen Barytwasser, von welchem 31,3 ccm genau 20 ccm der Viertelnormalsäure entsprechen.

#### Versuch I (mit Leucin).

N-Bestimmung in 25 ccm Albumoselösung =  $\frac{1}{4}$  des Ganzen.

a) Normalversuch. Vorgelegte Säure 20 ccm. Zur Neutralisation gebraucht 10,10 ccm Barytwasser = 0,18965 N im Ganzen.

b) Mischung mit Leucin. Vorgelegte Säure 20 ccm. Zur Neutralisation gebraucht 5,6 ccm Barytwasser = 0,22991 N im Ganzen; davon im Leucin enthalten 0,05389 N.

#### Versuch II (mit Glycocoll).

1. 1,8652 g Fibrin geben 0,4558 g Trockenrückstand = 23,901 pCt. 5 g enthielten somit 1,1951 g Trockenrückstand.

2. N-Bestimmung in 25 ccm der Albumoselösung =  $\frac{1}{4}$  des Ganzen.

	Vorgelegte Säure.	Zur Neutralisation.	N im Ganzen.
a) Normalversuch I . . . .	20 ccm	12,3 ccm Baryt	0,16997
b) - II . . . .	20 -	13,3 - -	0,16102
c) Mischung mit Glycocoll I	20 -	7,65 - -	0,21157
d) - - - II	20 -	7,10 - -	0,21648

Für das Glycocoll sind abzuziehen 0,05479 N.

#### Versuch III (mit Glycocoll).

1. N-Bestimmung im Fibrin: 1) 3,8266 g Fibrin; vorgelegt 20 ccm Viertelsäure; zur Neutralisation 16,40 ccm Baryt = 0,13329 N = 0,83307 Eiweiss = 21,77 pCt. 2) 3,8346 g Fibrin, vorgelegt 20 ccm Viertelsäure; zur Neutralisation gebraucht 16,30 ccm Baryt = 0,1314 N = 0,83866 Eiweiss = 21,87 pCt.

2. N-Bestimmung in 25 ccm Albumoselösung =  $\frac{1}{4}$  des Ganzen.

	Säure vorgelegt.	Zur Neutrali- sation gebraucht.	N im Ganzen.
a) Normalversuch I . . . .	30 ccm	16,25 ccm Baryt	0,54926 g
b) - II . . . .	25 -	6,85 - -	0,57744 -
c) Mischung mit Glycocoll I	30 -	12,05 - -	0,6244 -
d) - - - II	25 -	9,25 - -	0,6184 -

Für das Glycocoll ist abzuziehen 0,10958 N.

## Versuch IV (mit Leucin).

1. N-Bestimmung im Fibrin: 1) 4,2494 g Fibrin. Vorgelegt 20 ccm Viertelsäure, zur Neutralisation gebraucht 13,05 ccm Baryt = 0,10203 N = 24,012 pCt. Eiweiss. 2) 4,6222 g Fibrin. Vorgelegt 20 ccm Viertelsäure, zur Neutralisation gebraucht 12,5 ccm Baryt = 0,1051 N = 22,741 pCt. Eiweiss.

2. N-Bestimmung in 25 ccm Albumoselösung =  $\frac{1}{4}$  des Ganzen.

	Säure vorgelegt.	Zur Neutrali- sation gebraucht.	N im Ganzen.
a) Normalversuch I. . . .	20 ccm	5,1 ccm Baryt	0,23428 g
b) - II. . . .	20 -	5,05 - -	0,23482 -
c) Mischung mit Glycocoll I	30 -	16,70 - -	0,27061 -
d) - - - II	30 -	16,85 - -	0,26928 -

Für das Leucin ist abzuziehen 0,05443 N.

## Versuch V (mit Glycocoll und Eialbumin).

1. N-Bestimmung in 20 ccm der Hühnereiweisslösung. 1) Vorgelegt 20 ccm. Baryt erfordert 10,75 ccm = 0,91915 pCt. N = 1,149 g Eiweiss in 20 ccm. 2) Vorgelegt 20 ccm; Baryt erfordert 10,6 ccm = 0,92590 pCt. N = 1,1573 g Eiweiss in 20 ccm.

2. N-Bestimmung in 25 ccm der Albumoselösung =  $\frac{1}{4}$  des Ganzen.

	Säure vorgelegt.	Zur Neutrali- sation erfordert	N im Ganzen.
a) Normalversuch I. . . .	20 ccm	21,3 ccm Baryt	0,08946 g
b) - II. . . .	20 -	21,6 - -	0,08677 -
c) Mischung mit Glycocoll I	20 -	18,1 - -	0,11808 -
d) - - - II	20 -	18,6 - -	0,11361 -

Für das Glycocoll ist abzuziehen 0,05479 g N.