

483. A. Heiduschka und J. Förster:

Beiträge zur Kenntnis des Pepsins.

(Mitteilung aus dem Laboratorium für Lebensmittel- und Gärungschemie der Sächs. Technischen Hochschule zu Dresden.)

Eingegangen am 2. September 1932.

Es wurde der Einfluß verschiedener organischer Arzneimittel auf die peptische Wirkung dieses Enzyms untersucht. Über einige der dabei gefundenen Ergebnisse soll in folgendem kurz berichtet werden:

Von den zahlreichen in der Literatur beschriebenen Methoden zur Wertbestimmung des Pepsins benutzten wir zwei, die auf der Verminderung des Substrates beruhen, da die neuesten Titrationsmethoden, die auf der Bestimmung der bei der Eiweißspaltung fre werdenden Karboxyl- und Hydroxylgruppen basieren, infolge der Eigenart der Versuche nicht zur Anwendung kommen konnten.

Bei der ersten Methode, die sich an die von Fuld¹⁾ Levison²⁾ beschriebene anlehnt, wurde aus Hanfsamen hergestelltes Edestin als Substrat verwendet. Edestin geht beim Auflösen in einem sauren Medium, wie es für Pepsinverdauungsversuche notwendig ist, durch sofortigen Übergang in Edestan seiner Beständigkeit bei Gegenwart von Neutralsalz verlustig, während die bei der Verdauung aus demselben gebildeten Spaltprodukte in Salzlösung gelöst bleiben. Man kann also mittels einer gesättigten Kochsalzlösung unverdautes Edestan aussalzen und so den Fortschritt der Spaltung kontrollieren.

Für jeden Versuch wurde eine Reihe von zehn Reagenzgläsern mit abfallenden Mengen des Substrates versetzt, gleiche Mengen der Pepsinlösung zugegeben und das Gemisch 30 Minuten bei konstanter Temperatur der Verdauung überlassen. Anschließend wurde die Verdauung durch Einstellen der Gläser in siedendes Wasser unterbrochen und durch Zugabe gesättigter Kochsalzlösung diejenige Eiweißmenge ermittelt, die unter den gegebenen Bedingungen verdaut wurde.

Die beim Kontrollversuch ohne Zusätze verdaute Eiweißmenge wurde als Normalwert angenommen und aus der Verminderung der verdauten Eiweißmengen der Versuch mit Zusätzen der Grad der Einwirkung berechnet.

Als Kontrollmethode verwendeten wir die von Mett³⁾ angegebene, bei der in dünnwandige Glaskapillaren aufgesogenes und koaguliertes Ovalbumin mit Pepsinlösung digeriert wird und aus der Länge der verdauten Eiweißkapillarsäulen Schlüsse auf die Stärke des Pepsins gezogen werden.

¹⁾ Biochem. Ztschr. 6, 473.

²⁾ Pflügers Arch. Physiol. 1894, 58.

Um den Einfluß der Änderung der Wasserstoffionenkonzentration auf die Wirkung des Pepsins auszuschalten, nahmen wir sämtliche Versuche in einem stark gepufferten Verdauungsgemisch vor, so daß praktisch immer bei demselben pH gearbeitet wurde. Diese Maßnahme war erforderlich, weil einerseits die Wirkung des Pepsins sehr stark vom pH abhängig ist und andererseits der Einfluß der Veränderung der Säurestufe auf die Pepsinverdauung hinreichend genau bekannt ist. Wir wählten für unsere Versuche eine Wasserstoffionenkonzentration von $2.19 \cdot 10^{-2}$ ($pH = 1.66$); diese Säurestufe entspricht erstens derjenigen des menschlichen Magens, die mit $2 \cdot 10^{-2}$ ($pH = 1.7$) angegeben wird; zweitens liegt sie beim Optimum der Pepsinverdauung. Das ist insofern von Vorteil, als durch die Wahl des pH -Optimums der Verdauung Fehler, die durch ungenügendes Pufferungsvermögen des Reaktionsgemisches verursacht werden, auf ein Minimum herabsinken, da eine bestimmte Abweichung des wirklichen pH vom eingestellten die Aktivität des Pepsins im Scheitelpunkt der pH -Kurve aus geometrischen Gründen am wenigsten beeinflusst. Die Kontrolle des pH geschah auf kolorimetrischem Wege, mit dem von Sörrensens³⁾ empfohlenen Methylviolett.

Als Enzym wurde das vor kurzem von Northrop⁴⁾ beschriebene kristallisierte Pepsin verwandt, das wir uns nach dessen Angaben herstellten. Dieser Stoff stellt wohl die reinste und beständige Form des Pepsins dar. Nach angestellten Versuchen besteht das Molekül dieses kristallisierten Pepsins wahrscheinlich aus einer äußerst stabilen Verbindung der allein nicht beständigen Enzymgruppe mit einem Trägerstoff von Eiweißnatur. Beide Komponenten sind dabei zur Wirkung notwendig, und zwar wird die Enzymgruppe die eigentliche Spaltung vermitteln, während dem Trägerstoff die mehr physikalisch-chemische Kolloidfunktion und Absorption zukommen wird.

An Hand der vorstehend kurz skizzierten Methoden haben wir nun den Einfluß einiger Arzneimittel auf die verdauende Wirkung des Pepsins untersucht. Über die dabei gefundenen Ergebnisse ist zunächst ganz allgemein folgendes zu berichten:

Chemische Stoffe, die in dem in bezug auf die Wasserstoffionenkonzentration konstanten Gemisch einen fördernden Einfluß auf die Eiweißspaltung durch Pepsin hervorriefen, konnten nicht beobachtet werden.

Es wurden nur indifferente Mittel gefunden und solche, die die Verdauung hemmen.

Unter den Arzneimitteln mit indifferenter Wirkung befinden sich die meisten Alkaloide, vor allem diejenigen der Chinolin-, Morphin- und Isochinolingruppe, ferner Kohlehydrate wie z. B. Rohrzucker und arabischer Gummi; schließlich aber auch die als spezifische Magenmittel bekannten Tinkturen von Cinchona, Citrus, Cinnamomum, Valeriana usw.

³⁾ Biochem. Ztschr. 21, 131.

⁴⁾ Journ. gen. Physiol. 13, 739 und 767.

Der aus den vorliegenden Erfahrungen nicht zu bezweifelnde günstige Einfluß dieser Stoffe auf die Verdauung scheint also ausschließlich auf einer durch Reizung und Vermehrung der Sekretion sekundär bedingten Wirkung zu beruhen.

Bei den meisten untersuchten Arzneimitteln wurde jedoch ein hemmender Einfluß auf die peptische Funktion des Pepsins beobachtet. Diese Hemmung ist nicht durch eine Änderung der Wasserstoffionenkonzentration bedingt, sondern den Mitteln selbst zuzuschreiben, da das pH, wie schon erwähnt, bei allen Versuchen konstant gehalten wurde.

Der Grad der Hemmung nimmt mit zunehmender Konzentration zu, ist jedoch derselben nicht direkt proportional. Es zeigte sich vielmehr, daß das Optimum der Pepsinverdauung schon durch Zugabe geringer Konzentrationen von Fremdstoffen ziemlich rasch verändert wird, sich aber dann allmählich ein Gleichgewicht einstellt, so daß durch weiteren Zusatz von Arzneimitteln die Verdauung nicht mehr in dem Maße gestört wird, wie anfangs.

Im einzelnen wurden nun zunächst Antipyretika untersucht. Hier fällt besonders die stark hemmende Wirkung der Salizylsäure auf, die auch in ihren Derivaten wie z. B. bei der Azetylsalizylsäure, wenn auch in abgeschwächtem Maße wieder zum Ausdruck kommt.

Geringer wurde der hemmende Faktor bei den Abkömmlingen des Pyrazolons wie Antipyrin, Migränin und Pyramidon gefunden. Antipyrin und Migränin zeigen fast gleiches Verhalten gegenüber der Pepsinverdauung, während beim Pyramidon durch weitere Besetzung des Pyrazolonringes diese Wirkung noch weiter herabgesetzt wurde.

Chinin, als Vertreter der Alkaloide, zeigte keinerlei Einwirkung auf die Pepsinverdauung.

Tabelle I.

Einwirkung der Antipyretika auf die Pepsinverdauung.
Verdaute Eiweißmenge in %.

Zusatz d. Mittels in %	Salizyl- säure	Aspirin	Anti- pyrin	Migränin	Pyra- midon	Chinin
0	100	100	100	100	100	100
0.05	90	100				
0.1	75	95	100	100		
0.25	55	75	90	95	100	
0.5	35	60	80	85	95	
0.75		50	75	75	90	
1		40	70	70	80	
2			55	60	60	
3			40	40	50	
4			25	25		
5			20	20		

Tabelle I gibt über den Einfluß antipyretischer Mittel im einzelnen Auskunft. Es wurden im allgemeinen, soweit es die Löslichkeit zuließ, Zusätze eines jeden Arzneimittels von 0.05 bis 5% zum Verdauungsgemisch geprüft. Aus der Tabelle ist ersichtlich, wieviel Prozent der Eiweißmenge des Normalversuches ohne Zusatz bei verschiedenen großen Zusätzen des Fremdstoffes zum Reaktionsgemisch verdaut wurden. Die angeführten Zahlen sind Mittelwerte aus den Ergebnissen der beiden Versuchsmethoden.

Auch unter den anschließend untersuchten Hypnotika wurden zahlreiche verdauungshemmende Mittel gefunden, wenn gleich die Unterschiede in der Einwirkung hier nicht so groß sind wie bei den Antipyretika.

Am stärksten hemmten die älteren Schlafmittel wie Amylenhydrat, Chloralhydrat und Chloralamid die Pepsinwirkung. Dann folgten mit immer weiter abgeschwächter Wirkung der Reihe nach Arzneimittel der Veronalreihe (Veronal), der Urethane (Äthylurethan) und Aldehyde (Paraldehyd).

Die Alkaloide mit typisch hypnotischer Wirkung wie Morphin, Eukodal, Kodein usw. wurden auch hier frei von jeder Einwirkung auf die Verdauungstätigkeit des Pepsins gefunden.

Die einzelnen Ergebnisse sind aus Tabelle II ersichtlich.

Tabelle II.

Einwirkung der Hypnotika auf die Pepsinverdauung.
Verdaute Eiweißmenge in %.

Zusatz d. Mittels in %	Amylen- hydrat	Chloral- amid	Chloral- hydrat	Veronal	Paraldehyd	Urethan	Alkaloide Morphin Eukodal Kodein etc.
0	100	100	100	100	100	100	100
0.05	100	100	100				
0.1	90	95	95	100			
0.25	80	85	90	92	100	100	
0.5	70	70	75	80	95	95	
0.75	60	60	65	70	85	90	
1	50	55	55	65	75	80	
2	30	40	45		60	65	
3	20	35	40		50	55	
4	15		35		45	50	
5			30		40	45	

Ferner wurden noch zwei innerliche Antiseptika untersucht, und zwar das sulfogujakolsaure Kalium und Hexamethylentetramin. Beide Mittel zeigen ebenfalls hemmende Eigenschaften gegenüber der Pepsinverdauung, wenn auch in relativ geringem Maße. Vom Hexamethylentetramin gilt das allerdings nur soweit, als noch keine Abspaltung von Formaldehyd eingetreten ist.

Auch Vertreter der Xanthinderivate wie z. B. Koffein schädigen die Pepsinwirkung.

Indifferentes Verhalten zeigten dagegen Rohrzucker und Gummi arabicum, sowie die officinellen Tinkturen von *Cinchona succirubra*, *Citrus aurantium*, *Cinnamomum ceylonicum* und *Valeriana officinalis*.

Einzelergebnisse ergeben sich aus Tabelle III.

Tabelle III.

Einwirkung verschiedener Mittel auf die Pepsin-
verdauung.

Verdaute Eiweißmenge in %.

Zusatz des Mittels in %	Kal. sulfo- guajac	Koffein	Hexa- methylen- tetramin	Rohr- zucker	Gummi- arabic.	Tinkturen chinac, cinna- momum, au- rantium, vale- riana
0	100	100	100			
0.05	100					
0.1	95	100				
0.25	85	90	100	100	100	100
0.5	75	80	90			
0.75	70	75	85			
1	60	70	80			
2	50	60	75			
3	45	55	70			
4			65			
5			60			

Zusammenfassend zeigt sich also, daß eine große Anzahl von Arzneimitteln organischer Natur einen ungünstigen Einfluß auf die Pepsinverdauung ausübt.

Über den Chemismus dieser Einwirkung läßt sich allerdings bei der Unkenntnis der Aufspaltung des Eiweißmoleküls durch Enzyme überhaupt noch nichts Besonderes aussagen noch irgendwelche Gesetzmäßigkeit aufstellen, nach der die Wirkung artfremder Stoffe auf die peptische Verdauung verläuft. Man wird in dieser Beziehung vorläufig noch in jedem Falle auf experimentelle Versuche angewiesen sein.

Zur praktischen Verwertung der gefundenen Ergebnisse wäre zu bemerken, daß sehr wohl bei einigen der untersuchten Arzneimittel, besonders bei längerer Anwendung, eine Störung der Verdauung eintreten kann. Es ist aber anzunehmen, daß der gesunde Organismus diese Schädigungen durch vermehrte Enzymabsonderung wohl zum größten Teil wieder ausgleichen wird, so daß im allgemeinen die verdauungshemmende Wirkung der untersuchten Mittel innerhalb der therapeutischen Dosen nicht allzu großen Einfluß gewinnen wird.