

Acta Medica Okayama

Volume 2, Issue 2

1930

Article 3

DEZEMBER 1930

Über das Ferment des Giftdrusensekretes von *Trigocephalus blomhoff*

Tadao Hosizima*

Hirosi Takata[†]

Ziro Uraki[‡]

Sigetosi Sibuya**

*Okayama University,

[†]Okayama University,

[‡]Okayama University,

**Okayama University,

Aus dem Physiologisch-chemischen Institut Okayama.
(Vorstand: Prof. Dr. Shimizu.)

Über das Ferment des Giftdrüsensekretes von Trigocephalus blomhoff.

Von

Tadao Hosizima, Hiroshi Takata,
Ziro Uraki und Sigetosi Sibuya.

Eingegangen am 26. Juli 1930.

Es ist bekannt, dass die Mundsekrete der Schlange beim Verschlucken der Beutetiere eine grosse Rolle spielen. Daher müssen die Giftdrüsensekrete der Schlangen wohl verschiedene Fermente bzw. Proteasen enthalten. In diesem Sinne haben wir die Fermente der Giftdrüsensekrete von *Trigocephalus blomhoff* geprüft.

Das generelle Vorkommen von Peptidase „Erepsin“ in allen Organen bei allen Tieren, auch wirbellosen, ist mit Sicherheit zuerst von *Vernon* (1905) festgestellt worden. Darnach haben viele Forscher sie dann immer wieder gefunden.

Durchaus nicht alle Peptidasen enthalten sämtliche Komponenten. Es gibt Fälle, wo bestimmte Polypeptide nicht gespalten werden; es kommt auch vor, dass bestimmte Polypeptide nur von wenigen Präparaten, also nur in Ausnahmefällen, gespalten werden. Bei Anwendung von Peptonen als Substrate treten seltsame Organspezifitäten auf, obwohl *Abderhalden* (1913) behauptet, dass die Peptidasen in den Organen nur organeigene Peptone abbauen, während nach *Tscherikowski* (1920) keine Artspezifität der Peptidasen existiert.

Schon früher haben *Koelker* (1910, 1911) und *Warfield* (1911) festgestellt, dass im Speichel des Menschen ein Dipeptid wie die Alanyl-glyzin, d-Alanyl-glyzin, Glyzyl-l-tyrosin und i-Leuzyl-glyzin spaltende Dipeptidase vorhanden ist.

Nach der Angabe von *Koelker* (1911) hydrolysiert das Speichelferment des Menschen Tripeptide l-Leuzyl-glyzyl-d-alanin unter Bildung von l-Leuzin und Glyzyl-d-alanin. Das letztere wird sehr langsam weiter zu Aminosäuren abgebaut. Infolgedessen hat er behauptet, dass die hydrolytische Wirkung des Speichels mit der des Erepsins im Darm identisch sei, soweit sie das Tripeptid betrifft. Ebenso wird d-Alanyl-d-alanin, i-Alanyl-glyzin, r-Leuzyl-glyzin, Glyzyl-l-tyrosin und Glyzyl-d-alanin von dem Speichel hydrolysiert, i-Glyzylalanin dagegen nicht.

Im Jahre 1905 hat *Vernon* gefunden, dass das Erepsin der verschiedenen Organe bei Winterschlaf haltenden Igeln gegenüber den im Wachstum begriffenen Kontrolltieren stark herabgesetzt ist, und zwar besonders auffallend das der Milz.

Auf Grund der Daten ist es also wohl möglich, dass der Fermentgehalt der Giftdrüsensekrete bei den Winterschlaf haltenden Schlangen geringer befunden wird als im Sommer.

Wir haben das Ferment bei Winterschlaf haltenden Schlangen untersucht. Aus diesem Grunde dürfte der Fermentgehalt der Giftdrüsensekrete wohl herabgesetzt sein.

Was die Amylase im Speichel betrifft, so hat *Fuse* (1922) gefunden, dass im Schlangenspeichel von Python ein sehr schwach wirkendes, Stärke zu Dextrin und Zucker spaltendes Ferment vorhanden ist.

Experimenteller Teil.

Bereitung der Giftlösung.

Das Giftdrüsensekret wurde im Winter in der Art gewonnen, dass die Schlange beim Aufsperrn des Maules das Sekret aus den Giftdrüsen in das Uhrglas fließen lässt, indem sie fest auf das Glas beisst, wenn sie durch Schläge auf den Kopf ärgerlich gemacht wird.

Diese Sekrete im Uhrglas wurden im Exsikkator zum Trocknen gebracht. Dann erhielt man ein hellgelbes Kristallpulver. Eine bestimmte Menge des Pulvers wurde in wässriger Lösung zum Versuche verwendet.

A. Peptidasen.

Versuch 1. Auf Glyzylglyzin. Glyzylglyzin wurde nach *E. Fischer* aus Glykokoll und Chlorazetylchlorid dargestellt.

Zum Versuche wurden 2 cc einer 0.8%igen Glyzylglyzinlösung mit 3 cc einer 2%igen Schlangengiftlösung in dem Kolben zusammengebracht und unter Zusatz von 4 cc der Pufferlösung (Phosphatmischung) von pH 7.7 und von etwas Toluol 48 Stunden lang bei 35°C der Selbstverdauung überlassen.

Zur Kontrolle wurden einerseits 3 cc Wasser anstatt der Schlangengiftlösung, andererseits 2 cc Wasser anstatt der Peptidlösung beim eigentlichen Versuche zugesetzt und gleichfalls 48 Stunden lang bei 35°C digeriert.

Bei jedem Versuche wurde der Aminostickstoff in 2 cc Verdauungsflüssigkeit nach *Van Slyke* bestimmt. Die Resultate sind in folgender Tabelle 1 zusammengestellt.

Über das Ferment des Giftdrüsensekretes von Trigocephalus blomhoff. 203

Tabelle 1.

Nr.	Amino-N in 2 cc Verdaunungsflüssigkeit (a) (mg)	Amino-N in 2 cc Glyzylglyzin- lösung (b) (mg)	Amino-N in 2 cc Schlangengift- lösung (c) (mg)	a-c (mg)	Zunahme a-c-b (mg)
1	0.288	0.116	0.110	0.178	0.062
2	0.299	0.110	0.116	0.183	0.073
3	0.299	0.121	0.110	0.189	0.068

Versuch 2. Auf Glyzyl-l-leuzin. Glyzyl-l-leuzin wurde nach *E. Fischer* aus l-Leuzin und Chlorazetylchlorid dargestellt.

Der Versuch wurde in analoger Weise wie Versuch 1 ausgeführt; die Ergebnisse sind in Tabelle 2 angegeben.

Tabelle 2.

Nr.	Amino-N in 2 cc Verdaunungsflüssigkeit (a) (mg)	Amino-N in 2 cc Glyzyl-l-leuzin- lösung (b) (mg)	Amino-N in 2 cc Schlangengift- lösung (c) (mg)	a-c (mg)	Zunahme a-c-b (mg)
1	0.393	0.197	0.110	0.283	0.086
2	0.404	0.192	0.116	0.288	0.068
3	0.393	0.181	0.110	0.283	0.102

Versuch 3. Auf r-Leuzylglyzin. r-Leuzylglyzin wurde nach *E. Fischer* aus Glykokoll und α -Bromisokapronylbromid bereitet. Die Verdauung wurde in ganz der gleichen Art wie bei Versuch 1 und 2 erreicht. Die Ergebnisse sind aus folgender Tabelle 3 ersichtlich.

Tabelle 3.

Nr.	Amino-N in 2 cc Verdaunungsflüssigkeit (a) (mg)	Amino-N in 2 cc r-Leuzylglyzin- lösung (b) (mg)	Amino-N in 2 cc Schlangengift- lösung (c) (mg)	a-c (mg)	Zunahme a-c-b (mg)
1	0.498	0.324	0.110	0.388	0.064
2	0.506	0.330	0.116	0.390	0.060
3	0.498	0.329	0.110	0.388	0.059

Versuch 4. Auf Pepton. Zum Versuche wurde Witte-Pepton als 0.8%ige Lösung gebracht; alle Versuche wurden auf ganz dieselbe Weise wie die oben erwähnten Versuche ausgeführt. In Tabelle 4

werden die Daten gezeigt.

Tabelle 4.

Nr.	Amino-N in 2 cc Verdauungsflüssigkeit (a) (mg)	Amino-N in 2 cc Peptonlösung (b) (mg)	Amino-N in 2 cc Schlangengift- lösung (c) (mg)	a-c (mg)	Zunahme a-c-b (mg)
1	0.175	0.000	0.109	0.066	0.066
2	0.170	-0.010	0.115	0.055	0.065
3	0.170	0.005	0.109	0.061	0.056

Aus den Tabellen 1-4 ersieht man, dass Glyzylglyzin, r-Leuzylglyzin, Glyzyl-l-leuzin und Pepton durch die Giftlösung gespalten werden, obwohl der Spaltungsgrad ein sehr schwacher ist. Ob diese schwache peptidspaltende Wirkung der Giftdrüsensekrete der Schlangen auf dem verminderten Gehalte der Fermente beim Winterschlaf beruht, wie *Vernon* behauptet, ist noch unklar. Die Untersuchung darüber ist aber im Gange.

B. Amylase.

Die Prüfung auf Amylase ging in folgender Weise vor sich :

1 cc einer 5%igen Stärkelösung (lösliche Stärke) wurde mit 1 cc einer 2%igen Schlangengiftlösung und 1 cc Pufferlösung (Phosphatmischung) von pH 6.8 unter Zusatz von ein wenig Kochsalz und Toluol versetzt, in den Brutschrank bei 35°C gestellt und nach Ablauf von 48 Stunden die Jodreaktion angestellt. Als Kontrolle wurde 1 cc Wasser anstatt der Giftlösung des eigentlichen Versuches zugesetzt und gleichfalls behandelt. Die Resultate sind in folgender Tabelle 5 angegeben.

Tabelle 5.

Nr. d. Exp.		Schlangengift- lösung (cc)	Stärkelösung (cc)	Pufferlösung (cc)	Jodreaktion
1	a ₁	1	1	3	farblos
	b ₁	1 cc Wasser	1	3	blau
2	a ₂	1	1	3	farblos
	b ₂	1 cc Wasser	1	3	blau
3	a ₃	1	1	3	farblos
	b ₃	1 cc Wasser	1	3	blau

(a₁, a₂, a₃ Verdauungsflüssigkeit)

(b₁, b₂, b₃ Kontrolle)

Über das Ferment des Giftdrüsensekretes von Trigocephalus blomhoff. 205

Wie man aus der Tabelle 5 ersieht, zeigt das Giftdrüsensekret eine amylolytische Wirkung.

Schlussfolgerung.

1. Die Hydrolyse des Peptides: Glyzylglyzin, Glyzyl-l-leuzin, r-Leuzylglyzin verläuft durch das Giftdrüsensekret von Trigocephalus blomhoff schwach.
2. Das Polypeptid Pepton wird ebenso durch das Giftdrüsensekret hydrolysiert.
3. Die Stärkelösung wird durch das Giftdrüsensekret zu Zucker gespalten. Auf Grund der Daten kommt man zu dem Schlusse, dass im Giftdrüsensekret von Trigocephalus blomhoff Dipeptidase, Polypeptidase und Amylase vorhanden sind.

Literatur.

Abderhalden, E. u. *Fodor, A.*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 87, 220, 1913. — *Abderhalden, E.* u. *Schiff, E.*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 87, 231, 1913. — *Ewald, G.*, *Ishiguro, u. Watanabe, R.*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 91, 96, 1914. — *Fuse, N.*, Journ. of Bioch. 1, 219, 1922. — *Koelker, A. H.*, Journ. of biolog. chem. 8, 145, 1910. — *Derselbe*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 76, 28, 1911. — *Vernon, H. M.*, Journ. of physiol. 32, 33, 1905. — *Derselbe*, Journ. of physiol. 33, 81, 1905, *Tscherikowski, S.*, Zeitfchr. f. physiol. Chem. 111, 76, 1920. — *Warfield, L. M.*, Johns Hopkins Hospital Bulletin. 22, 150, 1911.
