

Ueber das sogenannte Thrombosin Lilienfeld's.

Von

C. D. Cramer.

(Aus dem physiologischen Laboratorium in Utrecht.)

(Der Redaction zugegangen am 3. Februar 1897.)

Nach Lilienfeld entsteht bei der Gerinnung des Blutes aus dem Fibrinogen eine neue, von ihm Thrombosin genannte Substanz, welche, mit Kalk sich verbindend, Fibrin bildet¹⁾. Dieses Thrombosin kann durch Behandlung mit verdünnter Essigsäure aus einer reinen Fibrinogenlösung erhalten und dann in Soda gelöst werden. Zusatz von CaCl_2 zu dieser Lösung ruft eine gallertige Fällung hervor. Dieser Niederschlag wird von Lilienfeld als aus Fibrin bestehend betrachtet.

Bald aber wurde von Schäfer bemerkt, dass Lilienfeld keineswegs nachgewiesen hatte, sein Thrombosin wäre etwas anderes als Fibrinogen²⁾. Schäfer fand, dass auch unverändertes Fibrinogen mittelst CaCl_2 aus seiner Lösung gefällt werden kann, wenn nur das mit Hilfe von NaCl bereitete Fibrinogen mit destillirtem Wasser gewaschen und dann in verdünnter Sodalösung aufgenommen wird.

Diese Beobachtung Schäfer's habe ich wiederholt bestätigen können. Ausserdem fand ich, dass aus einer Lösung des Thrombosins in Na_2CO_3 mittelst Zusatz eines gleichen Volumens gesättigter NaCl -Lösung ein Niederschlag erhalten wird, welcher in keiner Hinsicht sich vom unveränderten Fibrinogen unterscheidet, insbesondere, in Wasser gelöst, mit Fibrinferment eine typische Gerinnung gibt, und dass andererseits der mittelst CaCl_2 aus der Lösung des Thrombosins erhaltene Niederschlag

¹⁾ Zeitschrift f. physiol. Chem., Band XX, S. 89.

²⁾ Proc. of the Physiol. Soc., 16 March, 1895.

sch im Ueberschuss von CaCl_2 oder auch in NaCl leicht vollständig löst, wodurch derselbe sich von Fibrin unterscheidet. Es war jetzt leicht begreiflich, dass in einer, nach der Hammarsten'schen Methode bereiteten, ziemlich salzreichen Fibrinogenlösung Zusatz von CaCl_2 keine Fällung hervorruft: wird aber erst das Fibrinogen durch Fällung mittelst Essigsäure (Lilienfeld) oder Waschen mit Wasser (Schäfer) salzarm gemacht und dann in Soda gelöst, dann ruft Zusatz von CaCl_2 einen Niederschlag hervor, welcher aber nicht als Fibrin, sondern als eine Fibrinogen-Kalk-Verbindung zu betrachten ist.

In der Absicht, die Frage mit mehr Sicherheit beurtheilen zu können, entschloss ich mich zu einer mehr eingehenden Vergleichung des Fibrinogens und des Thrombosins, erstens mit Hülfe der Elementaranalyse und zweitens durch Bestimmung des Drehungsvermögens,

Nach dem Abschluss meiner Arbeit erschien die wichtige Abhandlung Hammarsten's «Ueber die Bedeutung der löslichen Kalksalze für die Faserstoffgerinnung»¹⁾. Was ich über die Fähigkeit des «Thrombosins», mit Fibrinferment typisches Fibrin zu bilden, und über die Löslichkeit der Fibrinogen-Kalkverbindung beobachtet hatte, fand ich darin schon beschrieben. Darüber brauche ich also nichts Weiteres mitzutheilen. Ich beschränke mich auf die Beschreibung meiner, die elementare Zusammensetzung und das Drehungsvermögen des Fibrinogens und des Thrombosins betreffenden Befunde.

Das Fibrinogen wurde aus in Kaliumoxalatlösung aufgegangenem Rindsblut nach der Hammarsten'schen Methode mit Hülfe des Centrifugalapparates bereitet. Die Substanz wurde wenigstens drei Mal mittelst NaCl gefällt und dann wieder in Wasser gelöst. Ein Theil der Lösung wurde mit ein wenig CaCl_2 von 1% während 12 Stunden bei 37° C. hingestellt. In sehr seltenen Fällen fand dann eine geringe Fibrinausscheidung statt und dann wurde die Lösung zum vierten, ja bisweilen zum fünften Mal gereinigt, bis CaCl_2 nicht die Spur einer Gerinnung mehr verursachte.

¹⁾ Zeitschrift f. physiol. Chem., Bd. XXII. S. 333.

Die Fibrinogenlösung wurde dann folgender Weise behandelt. Die eine Hälfte wurde, zur Fällung des Fibrinogens, gegen destillirtes Wasser dialysirt: aus der anderen Hälfte wurde, durch vorsichtigen Zusatz von 1 proc. Essigsäure, das Thrombosin ausgefällt. Sowohl das Fibrinogen wie das Thrombosin wurden dann folgender Weise für die Analyse vorbereitet: nach der Fällung wurde die Substanz in destillirtem Wasser gewaschen, in 96 proc. Alkohol gebracht, darin mittelst Glasstäbchen zerkleinert, dann mit Aether gewaschen und bei 37° C. getrocknet. Die trockene Substanz wurde jetzt im Achatmörser fein zerrieben und auf ein gehärtetes Filter gebracht. Dann wurde, in der Absicht, die Substanz soviel wie möglich von Salz zu befreien, so lange 70 proc. Alkohol auf das Filter gegossen, bis im Filtrat Chlor nicht mehr nachzuweisen war. Schliesslich wurde die Substanz mit 97 proc. Alkohol, absolutem Alkohol und mit Aether gewaschen und bis zur Gewichtskonstanz bei 110° C. getrocknet.

Da zu erwarten war, dass, wenn ein Unterschied in der Zusammensetzung besteht, dieser am meisten in Bezug auf den Stickstoffgehalt hervortreten würde, so bestimmte ich erstens nach der Kjeldahl'schen Methode den N-Gehalt beider Stoffe. Die Substanz (200—400 mgr.) wurde mit 10 cc. H_2SO_4 und 0,400 gr. Quecksilberoxyd langsam, bis zur Entfärbung der Flüssigkeit, zersetzt, dann in einen Destillirkolben gebracht und 80 cc. Kalilauge (1,34 Sp. G.), 40 cc. einer 4 proc. Schwefelkaliumlösung und einige Stückchen Zink zugesetzt. Das überdestillirte Ammoniak wurde in $\frac{1}{4}$ n. H_2SO_4 aufgefangen. Die Menge der gebundenen Schwefelsäure wurde mit $\frac{1}{4}$ n. KOH mit Methylorange als Indicator, zurücktitirt.

Mittelst blinder Versuche und N-Bestimmungen von Stoffen, deren Stickstoffgehalt bekannt ist (Harnstoff), überzeugte ich mich von der Tauglichkeit der Reagentien. Nachstehend gebe ich die Resultate der Analysen. Die gleichnummerirten Reihen beziehen sich auf Material von derselben Bereitung, wobei jedes Mal, wie gesagt, die Hälfte der aus dem Blutplasma erhaltenen Fibrinogenlösung zur Thrombosinbereitung verwendet wurde.

Fibrinogen.

	Aschefreie Substanz.	Gebundene $\frac{1}{4}$ n. H_2SO_4 .	Stickstoff.	Substanz für Aschebestimmung.	Asche
1	0,3663 gr.	17,25 cc.	16,48 ‰	0,2893 gr.	0,345 ‰
2	0,3033 »	14,2 »	16,38 ‰) 0,2793 ») 0,393 ‰
3	0,3111 »	14,6 »	16,42 ‰		
4	0,2752 »	12,875 »	16,37 ‰		

Thrombosin.

	Aschefreie Substanz.	Gebundene $\frac{1}{4}$ n. H_2SO_4 .	Stickstoff.	Substanz für Aschebestimmung.	Asche:
1	0,3193 gr.	15,05 cc.	16,49 ‰	0,298 gr.	0,268 ‰
2	0,3198 »	14,9 »	16,31 ‰) 0,2981 ») 0,369 ‰
3	0,3225 »	15,0 »	16,27 ‰		
4	0,4337 »	20,2 »	16,30 ‰		

Aus der Vergleichung beider Tabellen geht hervor, dass gegenüber einem mittlern Stickstoffgehalt des Fibrinogens von 16,41 ‰ ein mittlerer Stickstoffgehalt des Thrombosins von 16,34 ‰ steht, ein Unterschied also von 0,07 ‰.

Die ersten genauen Stickstoffbestimmungen von Fibrinogen sind von Hammarsten gemacht worden¹⁾. Er arbeitete nach der Dumas'schen Methode²⁾ und erhielt aus 15 Beobachtungen einen mittlern N-Gehalt von 16,66 ‰. (Minimum 16,45 ‰, Maximum 16,84 ‰.) Der niedrigste von Hammarsten beobachtete N-Gehalt ist also unter der höchsten von mir gefundenen Zahl gelegen; es ist also möglich, dass der Unterschied innerhalb der Beobachtungsfehler gelegen ist, wenngleich

¹⁾ Pflüger's Archiv, Bd. XXII, S. 473.

²⁾ Salkowski und Hahn bestimmten den Stickstoffgehalt des Caseins aus Kuhmilch nach der Dumas'schen und nach der Kjeldahl'schen Methode und fanden bei Anwendung der letztgenannten Methode weniger N als nach der Dumas'schen. Munk aber fand, dass, wenn man, wie von Wilfarth angegeben, der Schwefelsäure Quecksilbermetallisches oder Quecksilberoxyd zusetzt und wenigstens eine Stunde lang kocht, dann derselbe N-Gehalt erhalten wird wie bei der Dumas'schen Methode. (Archiv für Anat. und Physiol., physiol. Abth., 1895, Heft 5 und 6.)

die Möglichkeit eines spezifischen Unterschiedes zwischen Fibrinogen vom Rind und vom Pferd (Hammarsten arbeitete mit Pferdeblut) nicht auszuschliessen ist. Hammarsten sagt auch in Bezug auf Fibrin: es ist sehr wohl möglich, dass das Fibrin verschiedener Thierarten eine ungleiche Zusammensetzung haben kann.¹⁾

Bei so grosser Uebereinstimmung im Stickstoffgehalt durfte erwartet werden, dass auch der C- und H-Gehalt von Fibrinogen und Thrombosin keinen Unterschied zeigen würde, um so mehr weil der Kohlenstoff- und Wasserstoffgehalt der Eiweissstoffe des Blutes weniger variiren wie der Stickstoffgehalt.

In der oben beschriebenen Weise wurden Fibrinogen und Thrombosin aus Rindsblut für die Bestimmung vorbereitet, und zwar wieder so, dass jedesmal das Thrombosin verglichen wurde mit demselben Fibrinogen, aus welchem es, mittelst Essigsäure, erhalten war.

Die Verbrennung fand folgender Weise statt: das eine Ende einer zuvor unter Sauerstoffdurchleitung ausgeglühten und reinen Sauerstoff enthaltenden Verbrennungsröhre wurde über eine Länge von 6 cm mit warmem Kupferoxyd gefüllt, in die dann folgende Strecke, 5 cm lang, wurde die bis zur Gewichtconstanz getrocknete und gewogene Substanz gebracht, nachdem dieselbe erst mit heissem Kupferoxyd vermischt war in einem über die Flamme getrockneten, auf die Verbrennungsröhre gestellten Kupfertrichter. Die Oeffnung dieses Trichters konnte mit einem Kupferplättchen geschlossen werden, so dass die Substanz tüchtig mit dem Kupferoxyd vermischt werden konnte. Durch zur Seite schieben des Plättchens mittelst eines ausgeglühten Kupferspatels wurde das Gemisch in die Röhre gebracht. Trichter und Spatel wurden sorgfältig mit heissem Kupferoxyd nachgespült. Die folgende Strecke, 12 cm, wurde durch denselben Trichter mit heissem Kupferoxyd gefüllt. Schliesslich wurde eine auf 110° C. erhitzte Rolle aus Kupferdrahtnetz in die Röhre gebracht. Jedesmal wurde Tags zuvor das Kupferoxyd im Sauerstoffstrom ausgeglüht und das Kupfer-

¹⁾ Pflüger's Archiv, Bd. XXII, S. 480.

drahtnetz reducirt. Die Verbrennung fand unter einem constanten langsamen Sauerstoffstrom allmählich von vorn nach hinten statt. Die Verbrennung dauerte 3 bis 4 Stunden.

Die Resultate folgen hier.

Fibrinogen.

	Aschefreier Stoff.	Gewichtszunahme		Asche.	Kohlenstoff.	Wasserstoff.
		Schwefelsäure.	Kali.			
1	0.4637 gr.	0.277 gr.	0.8418 gr.	} 0.38 %	49.51 %	6.65 %
2	0.3951 »	0.2612 »	0.7377 »		50.92 %	7.361 %
3	0.3914 »	0.2564 »	0.7416 »		51.67 %	7.29 %

Thrombosin.

	Aschefreier Stoff.	Gewichtszunahme		Asche.	Kohlenstoff.	Wasserstoff.
		Schwefelsäure.	Kali.			
1	0.4044 gr.	0.2720 gr.	0.7565 gr.	} 0.34 %	51.01 %	7.49 %
2	0.3929 »	0.2657 »	0.7281 »		50.54 %	7.53 %
3	0.3512 »	0.2398 »	0.6656 »		51.68 %	7.603 %

Gegenüber einem mittlern Kohlenstoffgehalt des Fibrinogens des Rindes von 50,7% steht also für das Thrombosin ein mittlerer C-Gehalt von 51,08% und für den Wasserstoffgehalt sind die Mittelzahlen 7,1% resp. 7,54%. Für den Kohlenstoffgehalt also ein Unterschied von 0,38, für den Wasserstoffgehalt von 0,44.

Weder im N-Gehalt noch im C- und H-Gehalt ist also ein Unterschied zwischen Fibrinogen und Thrombosin gefunden.

Hammarsten erhielt als Mittelzahl aus 15 Bestimmungen für den C-Gehalt 52,93% (Maximum 53,17, Minimum 52,47) und für den H-Gehalt 6,9% (Maximum 7,13, Minimum 6,72).

Vielleicht hat der Unterschied zwischen seinen Befunden und den meinigen auch in Bezug hierauf seinen Grund in Unterschieden der Thierarten, wie in Bezug auf den N-Gehalt schon bemerkt wurde.

Wie oben gesagt, glaubte ich Lilienfeld's Thrombosin-kalkverbindung, der Löslichkeit in NaCl und im Ueberschuss

von CaCl_2 wegen, für etwas Anderes als Fibrin halten zu dürfen. Zur grösseren Sicherheit habe ich auch den N-Gehalt dieser Verbindung untersucht.

Hammarsten wies nach, dass das Fibrin aus Pferdeblut in Bezug auf C- und H-Gehalt nahezu mit dem Fibrinogen derselben Thierart übereinstimmt, dass aber der N-Gehalt beider Stoffe einen nicht unbeträchtlichen Unterschied zeigt. Während er für den Stickstoffgehalt des Fibrinogens 16,66% fand, erhielt er für denjenigen des Fibrins 16,91% (Maximum 17,02%, Minimum 16,85%). Stellte sich nun heraus, dass der N-Gehalt des Thrombosinkalks des Rindes 16,41%, den mittleren N-Gehalt des Fibrinogens derselben Thierart, nicht übertrat, so durfte wohl der Beweis, dass Trombosinkalk nicht Fibrin ist, als geliefert erachtet werden.

Wie bei den vorigen N-Bestimmungen wurde auch hier die Kjeldahl'sche Methode gebraucht.

Die Thrombosinkalkverbindung wurde folgender Weise bereitet. Zu einer dreifach gereinigten, mit CaCl_2 in zwölf Stunden keine Gerinnung gebenden Fibrinogenlösung wurde tropfenweise einprocentige Essigsäure hinzugesetzt. Der feinflockige, nach den ersten Tropfen beim Schütteln wieder verschwindende Niederschlag ballte sich bei Zusatz von mehr Essigsäure zu einem gallertigen Klumpen zusammen, welcher leicht im Ganzen aus der Flüssigkeit herauszunehmen war, und dann nach Abwaschen mit destillirtem Wasser in 0,1% Na_2CO_3 gebracht wurde. Die so erhaltene Lösung wurde mit CaCl_2 (1%) gefällt, der Niederschlag wurde in destillirtem Wasser gewaschen, unter 96% Alkohol zerkleinert, mit absolutem Alkohol und Aether behandelt, bei 37° C. getrocknet und im Achatmörser zerrieben. Dann wurde die Substanz so lange auf dem Filter mit 70% Alkohol gewaschen, bis mit Ammoniumoxalat Kalk, mit Silbernitrat Chlor nicht mehr im Filtrat nachzuweisen war, darauf gewaschen mit Alkohol 96%, absolutem Alkohol und Aether, und schliesslich bei 110° C. bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Die Resultate der Stickstoffbestimmungen des in dieser Weise vorbereiteten Thrombosinkalkes folgen hier.

Thrombosinkalk.

	Aschefreie Substanz.	gebundene $\frac{1}{4}$ n. $H_2 SO_4$.	Stickstoff.	Substanz für Aschebestimmung.	Asche.
1.	0.2771 gr.	12.825 cc.	16.19 %) 0.1931 gr.	5.59 %
2.	0.2638 „	12.225 „	16.22 %		
3.	0.2641 „	12.4 „	16.43 %) 0.2832 „	5.04 %
4.	0.2936 „	13.8 „	16.45 %		

Der mittlere Stickstoffgehalt war also 16,32%, sogar noch weniger wie der N-Gehalt des Fibrinogens, und also weit unter dem relativ hohen N-Gehalt des Fibrins. Ich glaube also mit Sicherheit sagen zu dürfen, dass die Thrombosinkalkverbindung von Liliensfeld unrichtigerweise als Fibrin betrachtet worden ist.

Auffallend ist der hohe Aschengehalt der Verbindung. Wenn der durch Zusatz von $CaCl_2$ in der Thrombosinlösung hervorgerufene Niederschlag herausgenommen war, und die Flüssigkeit sich selbst überlassen wurde, bildete sich darin auf Neue eine gallertige Ausscheidung, bisweilen so stark, dass die ganze Flüssigkeitsmenge am folgenden Tag zu einer weichen Gallerte geronnen war.

Eine Aschebestimmung dieses Niederschlags lieferte nur 1.16%. Bei der langsamen Ausscheidung scheint also das Thrombosin weniger Kalk, entweder in chemischer Bindung, oder mechanisch, aufzunehmen.

Das Vermögen, die Polarisationsebene nach links zu drehen, geht, wie hauptsächlich von Frédéricq nachgewiesen worden ist¹⁾, bei den verschiedenen Eiweissstoffen genug auseinander und ist bei jedem rein bereiteten Eiweissstoff von genügender Konstanz, dass dasselbe für die Charakteristik der Eiweissstoffe mit herangezogen werden darf. Das Drehungsvermögen des reinen, nach Hammarsten bereiteten Fibrinogens ist zuerst von Mittelbach bestimmt worden²⁾.

Mittelbach verwendete in Kaliumoxalat aufgefangenes Pferdeblut, aus welchem die Blutkörperchen schnell zu Boden

¹⁾ Arch. de Biologie. T. I. p. 457.

²⁾ Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. XIX. S. 289.

sinken und leicht ein klares Plasma zu erhalten ist. Aus dem mit dem gleichen Volumen gesättigter Steinsalzlösung vermischten Plasma wurde das zusammengeballte Fibrinogen mit der Hand herausgefischt. Das Fibrinogen wurde nun zwischen den Fingern durchgepresst, sofort wieder in 2—3% Steinsalzlösung gebracht und nach der Auflösung wieder mit gesättigter Steinsalzlösung gefällt. Nach dreimaligem Fällen und Lösen, wenn nöthig, Filtriren, wurde die Lösung für die Bestimmung gebraucht. Die Lösung enthielt nicht mehr wie 0,5% Fibrinogen. Stärkere Lösungen wurden nicht zu erhalten gesucht, da schon Lösungen von der angegebenen Concentration wegen ihrer beträchtlichen Opalescenz oder Trübung zur Polarisation nicht mehr sehr geeignet gefunden wurden. Der Drehungswinkel wurde im 2 D. M. Rohr mittelst eines Polarimeters von Lippich bestimmt, welches eine Ablesung von noch 0,005° gestattete.

Die vier von Mittelbach gemachten Bestimmungen lieferten für $[\alpha]_D$ resp. 50,6°, 51,5°, 53,9°, 54,1°, für den Eiweissgehalt 0,2048%, 0,2886%, 0,5322%, 0,2914% und für den Aschegehalt 1,045%, 1,141%, 2,251%, 2,409%.

Er erhielt also für die mittlere spezifische Drehung des Fibrinogens aus Pferdeblut 52,5°.

Ich habe erstens das Fibrinogen des Rindes, in der oben beschriebenen Weise dargestellt, gebraucht. Die Lösung wurde unmittelbar vor der Bestimmung filtrirt. Meistens war die Opalescenz der Lösung so gross, dass ich, bei Anwendung des Laurent'schen Polarimeters, die ganze Lichtkraft gebrauchen musste, damit beide Hälften des Gesichtsfeldes gleich hell gesehen werden könnten. Das kleinste mir zur Verfügung stehende Rohr war 2 D. M. lang. Zur Bestimmung des Drehungswinkels wurde das Rohr erst mit destillirtem Wasser gefüllt zur Feststellung des Nullpunctes; dann wurde die Fibrinogenlösung in das Rohr gebracht und aus 4 Ablesungen das Mittel genommen.

Zur Bestimmung des Gehaltes an Salz und an organischer Substanz wurde in folgender Weise verfahren. Von der klaren filtrirten Lösung wurden 50 cc. in einer Platinschale auf dem Wasserbad zur Trockne ausgedampft und dann bis zur Gewichtsconstanz bei 110° erhitzt. Darauf wurde der Inhalt der Schale

vorsichtig verkohlt und das Salz mittelst Wasser ausgelaugt: dieses Extract, durch ein aschefreies Filter filtrirt, war bisweilen farblos, meistens aber einigermassen bräunlich gefärbt. Das Filter wurde mit dem verkohlten Eiweiss in der Platinschale verbrannt. Dann wurde das die ausgelaugten Salze enthaltende Wasser in derselben Schale zur Trockene ausgedampft und wurde der Schaleninhalt bei schwacher Rothglühhitze vollständig verbrannt. Nachstehende Tabelle gibt im ersten Stabe die Menge des Eiweisses in 100 cc., im zweiten die Menge der Asche in 100 cc., im dritten die beobachteten Drehungswinkel und im vierten den gefundenen specifischen Drehungswerth.

	Eiweiss.	Salz.	gefundene Drehung.	$[\alpha]_D$
1	0,426 gr.	1,362 %	— 18'	— 35,2°
2	0,4144	1,752 %	— 18'	— 36,19°
3	0,3178	1,415 %	— 14'	— 36,5°
4	0,2646	1,819 %	— 12'	— 37,7°

Der Mittelwerth der vier Bestimmungen ist also $-36,8^\circ$, während Mittelbach $-52,5^\circ$ fand. Da die von mir gebrauchte Methode der von Mittelbach angewendeten ganz analog ist, liegt die Vermuthung auf der Hand, dass die beträchtliche Differenz dem Unterschied in der Herkunft des Fibrinogens zuzuschreiben sei: Mittelbach gebrauchte ja Pferdeblut, während meine Versuche mit Rindsblut angestellt sind. Zur Prüfung dieser Vermuthung habe ich mit derselben Methode einen Versuch mit Fibrinogen aus Pferdeblut gemacht. Das Fibrinogen wurde aus 3 Liter in Kaliumoxalat aufgefangenen Pferdebluts, in derselben Weise wie für das Rindsblut beschrieben, dargestellt. Sogleich findet man einen Unterschied darin, dass aus dem Pferdeblutplasma das Fibrinogen sich mehr gallertig ausscheidet und sich leichter in Wasser löst, als das Fibrinogen aus Rindsblut. Nach dem Filtriren war die dreimal gereinigte Lösung viel weniger opalescirend wie die aus Rindsblut erhaltene Fibrinogenlösung, sodass die Bestimmung der Drehung bei geringer Lichtstärke stattfinden konnte. Auch konnte die

Fibrinogenlösung aus Pferdeblut länger wie die aus Rindsblut erhaltene Lösung sich selbst überlassen werden, ohne dass das Fibrinogen sich theilweise in unlöslicher Form ausschied.

Der Eiweiss- und Salzgehalt der Lösung wurde in derselben Weise, wie oben beschrieben, bestimmt.

Das Resultat war:

Eiweiss.	Salz.	gefundene Drehung.	$[\alpha]_D$
0,808 gr.	3,7442 ‰	— 49'	— 50,5°

Die Uebereinstimmung mit der von Mittelbach gefundenen Zahl (— 52,5° als Mittelzahl von 4 Bestimmungen, deren niedrigster Werth — 50,6° war) ist also ganz befriedigend. Bemerkenswerth ist der Unterschied im Eiweissgehalt. Während die von Mittelbach dargestellten Lösungen im Mittel 0,3292° Eiweiss enthielten und er selbst Lösungen, welche mehr als 0,5 ‰ Eiweiss enthielten, weniger gut brauchbar fand, weil dann die Opalescenz zu stark und der Drehungswinkel mit zu wenig Sicherheit zu bestimmen wird, hatte ich hier eine Lösung von 0,808 ‰, welche, im Vergleich mit den Fibrinogenlösungen aus Rindsblut, sehr wenig opalescirte und den Drehungswinkel mit geringer Lichtstärke messen liess.

Vielleicht war es in Bezug hierauf von einiger Bedeutung, dass ich, in der Absicht, die Fibrinogenlösung so salzarm wie möglich zu machen, nach der letzten Fällung das Fibrinogen erst mit destillirtem Wasser abspülte, bevor dasselbe in Wasser gelöst wurde, wobei das Spülwasser, auch wenn es nur sehr kurze Zeit mit dem Fibrinogen in Berührung kam, ziemlich stark opalescirend wurde.

Der Salzgehalt meiner Lösung war im Vergleich mit dem Eiweissgehalt nahezu ebenso gross, wie im Durchschnitt derjenige der von Mittelbach gebrauchten Lösungen.

Ich glaube also annehmen zu dürfen, dass das Fibrinogen des Pferdes und des Rindes unter sich, insbesondere in Bezug auf das Drehungsvermögen, specifisch verschieden sind.

Beiläufig weise ich auf die Untersuchungen Hermann's über das spezifische Drehungsvermögen der bei 52° — 54° gerinnenden Substanz, welche aus Fibrin mittelst Trypsinverdauung dargestellt werden kann¹⁾. Er fand für $[\alpha]_D$ des Verdauungsproductes -37° , eine Zahl, welche mit dem von mir gefundenen Mittelwerth für das Fibrinogen, $-36,8^{\circ}$, eine merkwürdige Uebereinstimmung bietet. Wenngleich die Lösung des Verdauungsproductes nicht alle Eigenschaften besitzt, welche eine reine Fibrinogenlösung zeigt, weist doch die Uebereinstimmung in Bezug auf Drehungsvermögen und Gerinnungstemperatur auf eine Verwandtschaft dieses Productes mit dem Fibrinogen hin. Aus der Arbeit Hermann's geht nicht hervor, von welcher Thierart sein Fibrin herstammte; da aber das Fibrin des Rindes am leichtesten in reichlicher Menge zu erhalten ist, ist es wohl sehr wahrscheinlich, dass er mit diesem Fibrin gearbeitet hat, umso mehr, weil er bei der Beschreibung der Darstellung seiner reinen Fibrinogenlösung wohl erwähnt, dass dafür Pferdeblut verarbeitet wurde.

Jetzt hatte ich zu untersuchen, ob vielleicht das Lilienfeld'sche Thrombosin sich in Bezug auf das Drehungsvermögen vom Fibrinogen unterscheidet. Mit Rücksicht auf den Einfluss des Lösungsmittels auf das Drehungsvermögen von optisch activen Stoffen war es aber nöthig, die Thrombosinlösung, in welcher Soda das Lösungsmittel darstellt, mit Fibrinogenlösungen, welche ebenfalls mit Hülfe von Soda anstatt mittelst NaCl bereitet waren, zu vergleichen.

Die Thrombosinlösung in $0,1\%$ Na_2CO_3 wurde in der oben beschriebenen Weise bereitet. Die Fibrinogenlösung wurde in folgender Weise dargestellt: Aus einer reinen Lösung von 3mal gefälltem Fibrinogen wurde das Fibrinogen mittelst des gleichen Volum gesättigter Kochsalzlösung niedergeschlagen, mit destillirtem Wasser gewaschen und in $0,1\%$ Na_2CO_3 gelöst. Diese Lösungen, sowohl des Thrombosins als des Fibrinogens, können im Vergleich mit neutralen salzhaltigen Fibrinogenlösungen lange Zeit sich selbst überlassen werden, bevor Trübung

¹⁾ Zeitschrift f. physiol. Chemie. Bd. 11, S. 508.

eintritt. Die leicht opalescirenden, filtrirten Lösungen wurden mit dem 2 D. M. Rohr des Polarimeters untersucht. Die Resultate folgen hier:

Fibrinogen.

	Eiweiss in 100 cc.	Salz.	beobachtete Drehungswinkel.	$[\alpha]_D$
1	0,4814 gr.	1,7876 ‰	— 27'	— 46,7°
2	0,2246	1,3414 ‰	— 12'	— 44,5°
3	0,4004	1,6106 ‰	— 22'	— 45,7°
4	0,5918	2,284 ‰	— 32'	— 45,06°

Thrombosin.

	Eiweiss in 100 cc.	Salz.	beobachtete Drehungswinkel.	$[\alpha]_D$
1	0,2884 gr.	0,143 ‰	— 16'	— 46,2°
2	0,4084 »	0,206 ‰	— 22'	— 44,8°
3	0,5898 »	0,223 ‰	— 32'	— 45,2°
4	0,4872 »	0,2356 ‰	— 27'	— 46,1°

Der mittlere Drehungswerth wurde also für die Fibrinogenlösung in Soda — 45,4° und für die Thrombosinlösung — 45,5° gefunden. Der mittlere Eiweissgehalt der Lösungen beider Stoffe war nahezu gleich: 0,4245 ‰ und 0,4434 ‰. Der Salzgehalt zeigt aber einen beträchtlichen Unterschied: für die Thrombosinlösungen war dieses im Mittel 0,2019 ‰, für die Fibrinogenlösungen dagegen 1,7039 ‰. Durch die Behandlung mit Essigsäure wird eben, wie von Hammarsten schon bemerkt ist, das Fibrinogen in salzarmem Zustand ausgefällt.

Ich glaube es jetzt für unzweifelhaft halten zu dürfen, dass das von Lilienfeld so genannte Thrombosin nichts anderes ist als Fibrinogen, und dass das Auffinden einer in salzarmen und schwach alkalischen Flüssigkeiten unlöslichen Fibrinogenkalkverbindung Lilienfeld unrichtiger Weise dazu gebracht hat, dieselbe mit Fibrin zu identificiren.