

# Über die ein und demselben Eiweißfermente zukommende proteolytische und milchkoagulierende Wirkung verschiedener Verdauungssäfte.

Von

Prof. J. P. Pawlow und Agronom S. W. Parastschuk.

Aus dem physiol. Laboratorium des Institutes für exper. Medizin zu St. Petersburg.)  
(Der Redaktion zugegangen am 17. Juli 1904.)

Der Zweck unserer Arbeit war, unter verschiedenen Bedingungen die gegenseitigen Beziehungen der proteolytischen und milchkoagulierenden Wirkung verschiedener Verdauungssäfte zu untersuchen.

Alle Gefäße, in denen wir unsere Versuche sowohl mit Eiweißverdauung, als auch mit Milchgerinnung vornahmen, wurden stets vor dem Versuche ausgekocht. Zu kurzdauernden (im Laufe einiger Minuten) Versuchen verwandten wir rohe Milch ohne irgendwelche Beimengungen, für langdauernde aber entweder sterilisierte oder solche Milch, welcher verschiedene Substanzen: Chloroform, Calomel, Thymol und Toluol hinzugefügt worden waren. Zu jedem Versuche nahmen wir gewöhnlich 10 ccm. Die Gerinnung fand im Thermostaten bei 38° C. statt. Zur Bestimmung der Verdauungskraft bedienten wir uns der Mettschen Eiweißstäbchen (mit Eier- oder Serumalbumin) oder auch in einigen Fällen des frischen Fibrins. Die Verdauungssäfte wurden in Büretten mit  $\frac{1}{100}$ -Teilstrichen eines Kubikzentimeters abgemessen.

## I. Magensaft.

Zur Koagulation der Milch verwendeten wir in den meisten Versuchen einen sauer reagierenden Magensaft. In jeder Reihe von vergleichenden Versuchen wurde die Acidität der einzelnen Magensaftportionen mittels einer 0,5%igen Salzsäurelösung

und dann die hierdurch entstehende Verdünnung durch Zusatz von destilliertem Wasser ausgeglichen. Weiter unten soll genau erklärt werden, weshalb wir uns berechtigt sehen, saure anstatt neutraler Lösungen der Fermente zu verwenden, und in einigen Fällen diese sogar absichtlich vorzogen. Fürs erste genügt es, wenn wir bemerken, daß unsere rohe Milch ohne irgend welchen Zusatz nach Versetzung mit 1 cem 0,5%iger Salzsäure (auf 10 cem Milch) im Brutschrank nie vor 10 Stunden gerann. Andererseits wirkten all unsere Magensaftportionen, sobald wir sie aufkochten, ganz wie eine 0,5%ige Salzsäurelösung, d. h. sie koagulierten die Milch auch nicht früher, als wie nach 10 Stunden. Wie leicht begreiflich, konnten wir dank der vollkommen identischen Acidität der zu vergleichenden Saftportionen die Differenzen der koagulierenden Wirkung derselben sehr leicht wahrnehmen, d. h. bestimmen, welche von ihnen mehr und welche weniger Ferment enthält. Das quantitative Verhältnis der beiden zu untersuchenden Wirkungen genau zu bestimmen, ist natürlich sehr schwierig. Dieses erhellt schon aus dem Umstande, daß die Gesetze beider Wirkungen nur für bestimmte Konzentrationen der Fermente, welche für beide nicht identisch sind, gelten und überhaupt auf absolute Genauigkeit nicht Anspruch machen können. Deshalb beschäftigte uns fast ausschließlich nur die Untersuchung des Parallelismus, nicht aber der Proportionalität der proteolytischen und milchkoagulierenden Funktionen der Verdauungssäfte. Nur ganz allmählich kamen wir zu einer Methode, welche uns ermöglichte, das quantitative Verhältnis beider zu untersuchenden Wirkungen genau festzustellen. Deshalb konnten wir erst gegen Ende unserer Untersuchungen in einigen wenigen Fällen diese Methode mit größerem oder geringerem Erfolge anwenden. Diese Fälle, sowie auch alles das, was wir von der milchkoagulierenden Wirkung und der proteolytischen Reaktion wissen, lassen in uns keinen Zweifel aufkommen, daß wir in kurzem überall dort, wo wir es gegenwärtig nur mit einem Parallelismus der Aktionen zu tun haben, eine Proportionalität derselben werden verzeichnen können.

In erster Reihe wurde die Wirkung des Magensaftes unter

verschiedenen physiologischen Sekretionsbedingungen der Pepsindrüsen untersucht. Der Magensaft wurde aus dem nach der Methode des einen von uns isolierten kleinen Magen gewonnen. Es wurden Magensaftproben, die sich auf drei verschiedene Nahrungssorten: Milch, Fleisch und Brot ergossen hatten, miteinander verglichen:

Tabelle I.

Nr. des Tieres	Nr. des Versuches	Menge des der Milch hinzugefügten Saftes in ccm	Milchsaft		Fleischsaft		Brotsaft	
			Verdauungskraft in mm (Mett)	Gerinnungszeit in Min.	Verdauungskraft in mm	Gerinnungszeit in Min.	Verdauungskraft in mm	Gerinnungszeit in Min.
1	1	0.2	1.8	50.0	3.6	5.25	5.8	2.5
1	2	0.3	1.85	30.0	4.05	3.0	5.8	0.75
1	3	0.3	2.45	12.0	3.8	3.2	6.4	0.75
2	4	0.2	2.9	35.0	4.0	9.0	6.4	5.5
2	5	0.2	2.5	26.0	3.6	6.5	6.6	2.5

Acidität und Verdünnung sind hier nur in jeder horizontalen Reihe ausgeglichen.

Aus der Tabelle folgt, daß in den verschiedenen Saftsorten beide Wirkungen einen vollkommen parallelen Verlauf nehmen. (Es verdient hierbei die auffallende Tatsache vermerkt zu werden, daß von dem Chymosin, dem vom herrschenden Standpunkt aus spezifischen Milchfermente, am wenigsten auf das Substrat seiner Wirkung ausgeschieden wird). In derselben Tabelle fällt jedoch die hervorragende Unproportionalität der Aktionen auf. Beim Übergange vom Fleischsaft zum Milchsaft vermindert sich die milchkoagulierende Wirkung in viel bedeutenderem Maße, als wie die proteolytische.

Indem wir die Erklärung dieser Erscheinung in spätere Teile unserer Abhandlung verlegen, wollen wir hier eine Modifikation des Versuches anführen, welche uns dort, wo wir auf den ersten Blick nur einen groben Parallelismus verzeichnen können, eine unzweifelhafte Proportionalität erkennen läßt. Den Versuch gibt Tabelle II wieder.

Tabelle II.

Magen-saft-sorte	Ver-dauungs-kraft in mm (Mett)	Quadrat der Milli-meter-zahl	Relative Konzen-tration der Fer-mente	Dem Ferment-gehalt nach äqui-valente Magen-saft-mengen in cem	Menge der hinzu-gefügtten Säure in cem	Menge des hinzu-gefügtten Wassers in cem	Ge-rinnungs-zeit in Sekunden
Brot-saft	5.8	33.64	1	0.15	1.28	0	190 (3' 10'')
Fleisch-saft	2.8	7.84	4.29	0.65	0.74	0.04	190
Milch-saft	2.0	4.0	8.41	1.67	0	0.16	195

In der ersten Kolonne sind hier die untersuchten Magen-saftsorten angegeben. Die zweite Kolonne gibt die Verdauungs-kraft der verschiedenen Sorten von Magensaft, welche alle auf das Zehnfache mit einer 0,2%igen Salzsäurelösung verdünnt worden waren und gleich lange (16 Stunden) im Brut-schrank gestanden hatten, in Millimetern des Eiweißstäbchens wieder. In der dritten Kolonne findet man die Quadrate der für die Verdauungskraft gefundenen Zahlen, d. h. die relativen Fermentmengen. Die Zahlen der vierten Kolonne zeigen, um wieviel Fleisch- und Milchsaff schwächer wirken, als wie Brot-saft. In der fünften Kolonne sind die dem Fermentgehalt nach äquivalenten Saftmengen angegeben. Die sechste Kolonne enthält die Mengen 0,2%iger Salzsäure, welche den in der vorher-gehenden Kolonne angegebenen Saftmengen hinzugefügt werden mußten, damit sämtliche Portionen gleichen Säuregehalt zeigten: die Menge der hinzuzufügenden Säure wurde auf Grund der Titrierwerte der einzelnen Saftportionen bestimmt. In der siebenten Kolonne sind die Mengen destillierten Wassers ange-geben, welche hinzugefügt werden mußten, damit die Flüssigkeits-massen ausgeglichen würden. Auf diese Weise standen uns also drei Portionen der oben bezeichneten Saftsorten zur Verfügung, welche alle eine gleiche Menge proteolytischen Fermentes, Säure und Flüssigkeit enthielten. Als eine jede dieser Portionen

mit je 10 cem Milch vermenget wurde, gerann letztere nach einer Anzahl von Sekunden, welche in der achten Kolonne zu suchen ist. Aus dieser Kolonne geht mit Deutlichkeit hervor, daß in bezug auf den Gehalt an proteolytischem Ferment äquivalente Mengen von Brot-, Fleisch- und Milchsaff unter sonst gleichen chemischen Bedingungen eine ganz gleiche milchkoagulierende Wirkung äußern, d. h. daß beide von uns zu betrachtenden Wirkungen sich in den verschiedenen Magensaftsorten vollkommen proportional verhalten.

Weiter wurden die im Laufe einer Stunde sich auf verschiedene Speisesorten er gießenden Magensaftportionen untersucht. Die in unten folgender Tabelle III angegebenen Saftportionen waren von ein und demselben Hunde gewonnen und in bezug auf Acidität und Verdünnung ausgeglichen worden. Zum Zwecke der Milchkoagulation verwandten wir je 0,3 cem Magensaft.

Tabelle III.

Stunden der Sekre- tions- periode	Milchsaff		Fleischsaft		Brotsaft	
	Ver- dauungs- kraft in mm (Mett)	Ge- rinnungs- zeit in Min.	Ver- dauungs- kraft in mm	Ge- rinnungs- zeit in Min.	Ver- dauungs- kraft in mm	Ge- rinnungs- zeit in Min.
1	3,0	197,0	2,8	167,0	5,0	18,0
2	2,0	320,0	3,9	55,0	8,0	2,0
3	2,15	300,0	4,55	25,0	7,6	2,5
4	2,15	300,0	3,95	57,0	7,2	3,5
5	2,9	210,0	2,7	210,0	6,3	4,5
6	4,4	23,5	3,0	180,0	5,6	7,5
7	5,8	7,0	3,4	135,0	5,0	15,0
8	—	—	—	—	5,7	5,5

Ein entschiedener Parallelismus läßt sich auch hier erkennen. Die hier und da vorkommenden geringen Abweichungen sind die natürliche Folge der in Anbetracht des geringen Verdauungseffektes und der bedeutenden Milchgerinnungsperioden

mangelhaften Technik. Derartige geringe Schwankungen sind bald häufiger, bald seltener auch in anderen ähnlichen Versuchen vorgekommen. Daß sie zufälligen Ursprungs sind, wird dadurch zweifellos dargetan, daß sie nie mit einer bestimmten Nahrungssorte, noch mit einer bestimmten Stunde der Sekretionsperiode zusammentreffen.

Wir kommen also zu dem Schlusse, daß unter verschiedenen physiologischen Bedingungen der Funktion der Pepsindrüsen, gleichviel, welche Schwankungen in dem absoluten Fermentgehalt des Saftes zu verzeichnen sind, beide Aktionen dieses letzteren stets einen parallelen Verlauf nehmen.

Wir gehen nun zu den verschiedenen Veränderungen des Magensaftes außerhalb des Organismus über.

Saurer, nach der Methode der sogenannten Scheinfütterung des Hundes gewonnener Magensaft wurde in den Brutschrank gestellt, wo er sich allmählich zersetzte. Von diesem Saft wurden alltäglich oder über 1—2 Tage Portionen zur Untersuchung genommen. Um die Eiweißstäbchen zu kontrollieren, verwandten wir eine besondere Portion desselben oder eines anderen Saftes, welcher bei Zimmertemperatur gestanden hatte, eine Methodik, die in Laboratorien zwecks Ausschließung irgend welcher Zufälligkeiten stets angewandt wird. Von dieser Portion nahmen wir auch Saft zur Milchkoagulation. Da die Acidität des Saftes sich beim Stehen im Thermostaten oder bei Zimmertemperatur nicht in irgendwie merkbarer Weise verändert, so konnten wir die verschiedenen Portionen unserer Magensaftproben sowohl in bezug auf ihre Verdauungskraft, als auch auf ihre koagulierende Wirkung direkt vergleichen. In den Milchkoagulationsversuchen, zu denen wir den Brutschranksaft verwandten, fingen wir mit kleinen Portionen an. Wurde die Gerinnungszeit zu lang, so gingen wir zu größeren Portionen über. Als die Eiweißstäbchen von dem Brutschranksaft im Laufe von 10 Stunden nicht mehr verdaut wurden, gingen wir zu Fibrin über.

Tabelle IV.

Datum	Verdauungskraft in mm (Mett)		Zeit der Gerinnung von in großen Massen sterilisierter und in zu- gelöteten Probierringläschen aufbe- wahrter Milch, in Minuten					Zeit der Gerinnung von roher Milch durch 0.2 ccm Kontroll- saft in Min.	
	Kontroll- saft	Brut- schrank- saft	Durch Brutschranksaft in der Menge von						Durch Kontroll- saft in der Menge von 0.2 ccm
			1.0 ccm	0.5 ccm	0.3 ccm	0.2 ccm	0.1 ccm		
25. I.	4.5	5.25	—	—	—	—	21.0	7.0	2.5
26.	4.4	4.8	—	—	—	—	28.0	—	—
28.	4.2	4.8	—	—	—	6.5	39.0	7.5	2.5
30.	4.4	3.6	—	—	—	10.0	85.0	—	—
1. II.	4.6	2.7	—	—	—	17.0	—	—	—
4.	4.35	1.8	—	—	7.25	24.0	—	7.5	2.5
6.	4.4	1.6	—	—	16.0	65.0	—	—	—
9.	4.5	1.1	—	6.25	23.5	—	—	—	—
11.	4.45	0.75	—	7.5	34.0	—	—	6.5	2.5
13.	4.2	0.6	—	14.5	—	—	—	8.25	—
15.	4.3	0.4	12.0	100.0	—	—	—	—	—
18.	4.4	0.15	17.0	—	—	—	—	7.0	2.0
20.	4.4	— Fibrin- auflösung in Stunden	—	—	—	—	—	—	—
21.	4.4	3	21.0	—	—	—	—	—	—
23.	—	4	32.0	—	—	—	—	8.0	—
24.	—	3.5	50.0	—	—	—	—	—	—
26.	—	4.5	87.0	—	—	—	—	7.5	2.5
28.	—	5.5	130.0	—	—	—	—	7.5	—
4. III.	4.4	8	270	—	—	—	—	—	—
6.	—	10	420	—	—	—	—	7.5	2.5

Diese Tabelle beweist augenfällig, daß auch bei langem Stehen des Magensaftes außerhalb des Organismus beide Wirkungen desselben einander vollkommen parallel bleiben. Während im Brutschranksaft beide Wirkungen im Laufe von 41 Tagen einander vollkommen parallel fast bis auf Null hinuntergehen, bleiben sie in dem Saft, welcher bei Zimmertemperatur stand,

im Laufe desselben Zeitraumes fast ganz unverändert. Derselbe Versuch wurde mit dem annähernd gleichen Ergebnis noch einmal wiederholt. Ein ebensolcher Versuch wurde mit einer neuen Portion Magensaft angestellt, nur wurde hier der zur Milchkoagulation verwandte Saft jedesmal mit kohlensaurem Baryt neutralisiert. Auch in diesem Falle war das Ergebnis des Versuches mit demjenigen der vorhergehenden identisch.

In einer weiteren Reihe ähnlicher Versuche wurde der zur Milchkoagulation verwandte Magensaft mit Soda neutralisiert. In diesem Falle schwand die milchkoagulierende Wirkung des im Thermostaten sich zersetzenden Saftes früher, als wie die proteolytische. Die Erklärung dieser Erscheinung wollen wir später geben.

Saurer, nach der Methode der Scheinfütterung gewonnener Magensaft wurde im Laufe von 5 Minuten der Einwirkung höherer Temperaturen ausgesetzt und dann auf seine milchkoagulierende und eiweißlösende Wirkung untersucht.

Tabelle V.

Temperatur, auf welche der Saft erwärmt wurde	Zeit der Milchgerinnung in Minuten durch Magensaft in der Menge von				Verdauungs- kraft in mm (Mett)
	0,1 ccm	0,2 ccm	0,5 ccm	1,0 ccm	
15°	8,5	—	—	—	4,15
48°	12,0	—	—	—	4,1
50°	13,0	—	—	—	3,95
52°	17,0	3,5	—	—	3,9
54°	—	6,5	—	—	3,5
56°	—	21,5	0,5	—	2,75
58°	—	—	2,5	—	1,6
60°	—	—	27,0	14,0	0,3
62°	—	—	—	Im Laufe von 240 Min. nicht geronnen	0

Die Parallelisierung bei der Wirkung des Magensaftes ist auch in dieser Tabelle nicht zu übersehen. Bei allmählicher Erhöhung der Temperatur bis auf 52° nehmen beide Wirkungen

gleichfalls allmählich ab, bei Erwärmung über  $52^{\circ}$  gehen beide jäh hinunter und bei Erwärmung auf  $62^{\circ}$  nähern sie sich dem Nullpunkt.

Weiter wurde der Einfluß verschiedener chemischer Substanzen auf die Fermente des Magensaftes studiert. Hierbei hatten wir viele Fälle zu verzeichnen, wo der von uns früher vermerkte Parallelismus scheinbar vollkommen zerstört wurde. Setzt man dem Magensaft verschiedene Salze, Galle, Alkohol, Zucker usw. hinzu, so nimmt seine Verdauungskraft bedeutend ab; während seine milchkoagulierende Wirkung ganz ohne Veränderung bleiben oder sogar anwachsen kann. Hat jedoch letztere Wirkung durch Zusatz oben erwähnter Substanzen keine Abschwächung erfahren, so kann man überzeugt sein, daß auch die normale proteolytische Kraft wieder zum Vorschein tritt, sobald der Magensaft verdünnt wird, d. h. sobald der Prozentgehalt der die Lösungsreaktion hemmenden Substanz sich vermindert.

Tabelle VI.

Dem Magensaft wurde zugesetzt	Prozentgehalt des Zusatzes	Verdauungskraft in mm (Mett)	Gärungszeit in Min.	Wie vielmal der Saft und die Lösungen mit Säure verdünnt wurden	Verdauungskraft in mm
0	0	5,75	11,0	16	1,85
Kochsalz	5%	2,8	7,5	16	1,9
0	0	4,1	5,25	10	1,1
Essigsaures Natron	1,16%	0,4	4,75	10	1,1
Salicylsaures	0,17%	2,5	5,25	10	1,1
Aceton	8,5%	2,5	5,5	10	1,1
0	0	4,8	5,0	25	1,4
Alkohol	12,5%	1,8	6,5	25	1,3
Zucker	10%	3,2	5,5	25	1,4
0	0	4,75	1,0	50	2,7
Galle	5%	1,0	1,5	50	2,7

In den in dieser Tabelle wiedergegebenen Versuchen verwandten wir 4 verschiedene Portionen normalen Magensaftes und nur in jeder Reihe von Versuchen ein und dieselbe Portion, verdünnt wurde mit einer Säugelösung von stets gleicher Acidität: die Milch wurde zum Zwecke der Koagulation in allen Fällen mit der gleichen Menge Saft versetzt. Es können also die einzelnen Reihen von Versuchen in bezug auf die verdauende und koagulierende Wirkung nicht untereinander verglichen werden.

In den Fällen aber (wir schließen einige spezielle Fälle von Koagulationswirkung, die wir noch nicht untersucht haben, aus), wo die koagulierende Wirkung abnimmt, erfährt auch die proteolytische Wirkung dasselbe Schicksal, wie z. B. bei Wirkung von Alkalien und ihren Salzen. In diesen Fällen handelt es sich augenscheinlich um Zerstörung des Fermentes oder Übergang desselben in einen inaktiven Zustand. Auch hier äußert sich der Parallelismus beider Wirkungen. Wie bekannt, sind die Fermente des Magensaftes gegen Alkalien sehr empfindlich. Sogar ganz vorsichtige Neutralisation mit  $\text{NaHCO}_3$  einerseits und  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  andererseits und zwar bis zu ganz gleichen Graden der Neutralität ergibt schon einen Unterschied in der Fermentwirkung des Saftes, wobei gewöhnlich bei Neutralisation mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  die Fermentwirkung stärker abnimmt. Auch diese unbedeutende Verminderung äußert sich sowohl bezüglich der proteolytischen, als auch der milchkoagulierenden Wirkung in ganz gleicher Weise, wie aus Tabelle VII ersichtlich ist.

Tabelle VII.

Substanz, mit der der Magensaft neutralisiert wurde	Verdauungskraft in Millimeter (Mett)	Gerinnungszeit in Minuten
$\text{NaHCO}_3$	2.0	13.5
$\text{Na}_2\text{CO}_3$	1.7	20.0

## II. Pankreassaft.

Dasselbe parallele Verhältnis zwischen proteolytischer und milchkoagulierender Aktion, welches wir beim Magensaft verzeichnen konnten, fanden wir auch beim Pankreassaft wieder. In den diesbezüglichen Versuchen versetzten wir 10 ccm Milch mit 0,5—1,0 ccm 0,5%iger Salzsäure und gossen dann ein oder mehrere Zehntelkubikzentimeter der zu untersuchenden Pankreassaftportionen hinzu. Mit dieser Methodik beabsichtigten wir, erstens die Lösung des Caseins durch Trypsin einigermaßen zu hemmen. Ohne diese Vorsichtsmaßregel ist die koagulierende Wirkung, namentlich wenn man es mit einem kräftigen Pankreassaft zu tun hat, eine so flüchtige, daß es oft sehr schwer fällt, sie genau festzustellen. Säurten wir jedoch die Milch vor Zusatz des Saftes stark an, so förderten wir die Koagulationsreaktion und hemmten die proteolytische: auf diese Weise stellten sich für den Pankreassaft in gewissem Maße dieselben Verhältnisse ein, wie sie beim Magensaft liegen. Indem wir mehr Säure und weniger Pankreassaft nahmen, schwächten wir zweitens die Bedeutung der schwankenden Alkaleszenz des Pankreassaftes ab.

Vor allem erwies sich, daß der seiner lösenden Wirkung nach zymogene Saft auch in bezug auf die Milchkoagulation inaktiv ist. Damit der Saft seine beiden Wirkungen äußerte, mußten wir ihm ein und denselben Darmsaft hinzufügen. Wie einige unserer Versuche dargetan haben, äußern sich beide Wirkungen des Pankreassaftes unter Einfluß des Darmsaftes gleich rasch.

Uns standen Pankreassaftportionen von sehr verschiedener Herkunft zur Verfügung: von Hunden mit permanenten Fisteln und unter verschiedenen physiologischen Reizungsbedingungen (verschiedene Nahrungssorten, verschiedene Stunden der Sekretionsperiode usw.) und von akuten Versuchen an Hunden, bei denen der Pankreassaft durch Reizung der N. vagi und sympathici, durch Einführung von Säure und Seife in den Darm und durch Einspritzung von Sekretin ins Blut gewonnen wurde. Nachdem wir diese verschiedenen Saftsorten vollständig aktiviert

hatten, erprobten wir sowohl ihre koagulierende, als auch ihre lösende Wirkung. Auch hier sahen wir, ganz wie beim Magensaft, trotzdem, wie erwähnt, die physiologischen Bedingungen der Saftproduktion so mannigfaltige waren, die beiden Wirkungen niemals auseinandergehen, wenn wir übrigens von den unbedeutenden und unbedeutenden Abweichungen von dieser Regel, welche augenscheinlich zufälligen Ursprungs sind, absehen.

In Tabelle VIII haben wir die Pankreassaftportionen verschiedener Herkunft nach ihrer progressiv abnehmenden proteolytischen Wirkung, die in Millimetern des aufgelösten Eiweißstäbchens ausgedrückt ist, zusammengestellt. Bei der Koagulationsreaktion wurden 10 ccm Milch mit 1 ccm 0,5%iger Salzsäurelösung und mit 0,2 ccm Pankreassaft versetzt. Sämtliche Saftportionen wurden in gleicher Weise aktiviert.

Tabelle VIII.

Verdauungskraft des Saftes in Millimeter (Mett)	Gerinnungszeit in Minuten und Sekunden
6,7	25 Sek.
5,9	30 „
4,8	55 „
4,7	1 Min. — „
4,1	1 „ 30 „
4,0	1 „ 30 „
3,8	2 „ 15 „
3,1	3 „ 20 „
3,0	4 „
2,3	6 „

Auch hier wurde der Parallelismus beider Wirkungen bei Zersetzung des Saftes untersucht. Es ist längst bekannt, daß der Pankreassaft beim Stehen im Brutschrank in Zersetzung übergeht. Zusatz von Kinase beschleunigt diese Zersetzung in ganz hervorragendem Maße. Wir untersuchten infolgedessen durch Kinasezusatz aktivierten Pankreassaft auf seine beiden

Wirkungen, nachdem er im Brutschrank gestanden hatte. Einen von unseren Versuchen lassen wir hier folgen.

Pankreassaft mit 10% Darmsaftzusatz wurde um 12 Uhr 17 Min. in den auf 38° temperierten Brutschrank gestellt. Die zur Koagulation verwandten Milchproben maßen je 10 ccm und enthielten einen Zusatz von 0,5 ccm 0,5%iger Salzsäure: in den in Tabelle IX angegebenen Zeitpunkten wurden ihnen je 0,3 ccm des Saftgemisches hinzugefügt.

Tabelle IX.

Wann die zur Milchkoagulation verwandte Saftportion entnommen wurde	Gerinnungszeit in Sekunden
12 Uhr 22 Min.	720 <sup>1)</sup>
30 "	75
35 "	75
40 "	70
45 "	70
50 "	75
1 Uhr — "	85
32 "	105
2 " 2 "	135
32 "	165
3 " 2 "	205
32 "	280

Ein ebensolches Gemenge derselben Säfte, welches zur Eiweißverdauung bestimmt war, wurde um 12 Uhr 55 Min. angefertigt und in den Brutschrank gestellt. Um 1 Uhr 10 Min. entnahmen wir demselben die erste Saftportion, die wir ein nach Mett angefertigtes Serumalbuminstäbchen im Wasserbade im Laufe einer halben Stunde verdauen ließen. Weiter wurden alle halbe Stunden neue Portionen entnommen und in derselben Weise auf ihre Verdauungskraft untersucht. In Tabelle X sind

<sup>1)</sup> Der Saft war um diese Zeit noch sehr wenig aktiviert.

die Verdauungszahlen und ihre Quadrate als Ausdruck des relativen Fermentgehaltes zusammengestellt.

Tabelle X.

Verdauungskraft in Millimeter (Metz)	Quadrat der Verdauungs- zahlen
1.1	121
1.0	100
0.9	81
0.8	64
0.7	49
0.6	36

Aus den Tabellen ersieht man erstens, daß, wie oben erwähnt, das milchkoagulierende Agens durch Darmsaftzusatz ganz ebenso und annähernd mit der gleichen Schnelligkeit aktiviert wird, wie sie für die proteolytische Funktion des Pankreassaftes schon längst bestimmt ist. Wenn wir weiter beide Wirkungen des sich zersetzenden Pankreassaftes messen und miteinander vergleichen (die 6 letzten Zahlen der Tab. IX und die zweite Zahlenkolonne der Tab. X), so überzeugen wir uns zweitens, daß dieses Mal nicht nur ein Parallelismus zwischen beiden Wirkungen, sondern eine direkte Proportionalität besteht: hierbei berechnen wir die Fermentmenge bei der milchkoagulierenden Wirkung direkt nach den die Gerinnungszeit angehenden Zahlen, bei der proteolytischen aber nach den Quadraten der Millimeter des verdauten Serumalbumins.

### III. Der Saft des Pförtnertheiles des Magens und des Brunnerschen Abschnitts des Duodenums.

Schließlich erproben wir auf beide uns interessierende Wirkungen auch den Saft, welcher sich aus dem isolierten Pförtnertheile des Magens und aus dem die Brunnerschen Drüsen enthaltenden und ebenfalls isolierten Abschnitte des Duodenums ergibt. Die Saftproben wurden von Hunden mehrere Monate und sogar Jahre nach der Fisteloperation gewonnen.

Es erwies sich bei der Untersuchung erstens, daß die milchkoagulierende Wirkung beider Saftsorten sich nur dann äußert, wenn sie vordem angesäuert und später wieder neutralisiert werden, d. h. also, daß die Fermente durch Säurezusatz aktiviert werden müssen. Dieses besondere Verhalten der Fermente spielt in der uns interessierenden Frage eine hervorragende Rolle. Als bei einigen Autoren diese Verdauungssäfte, in ihrer natürlichen Gestalt oder die Extrakte der entsprechenden Verdauungsdrüsen keine milchkoagulierende Wirkung aufwiesen, waren die betreffenden Autoren geneigt, hierin wiederum einen Beweis für die Dualität des proteolytischen und des milchkoagulierenden Fermentes zu sehen.

Zweitens entsprechen in beiden Saftsorten den Schwankungen der Verdauungskraft in verschiedenen Stunden der Verdauungsperiode ebensolche Schwankungen der milchkoagulierenden Wirkung. Es muß bemerkt werden, daß auch wir, gleich vielen anderen Forschern, eine proteolytische Aktion des Pfortnersaftes und des Brunnerschen Saftes nur bei Ansäuerung derselben sahen, daß dagegen beide Saftsorten bei alkalischer Reaktion, welche sie im Moment ihrer Ausscheidung besitzen, wochenlang im Thermostaten stehen können, ohne auch nur eine Spur von proteolytischer Wirkung zu zeigen. Tabelle XI veranschaulicht den Parallelismus beider Wirkungen des Brunnerschen Saftes in eklatanter Weise.

Tabelle XI.

Saft des Brunnerschen Abschnittes des Duodenums, im Verhältnis von 2 : 1, mit 0.5%iger Salzsäure versetzt.

Stunden der Sekretionsperiode	Gerinnungszeit in Minuten	Verdauungskraft in Millimetern eines Serum- albumin- stäbchens
1 Stunde vor der Nahrungsaufnahme	250	2.4
1 nach » » »	82	3.6
2 Stunden » » »	145	3.2
3 » » »	140	3.2
4 » » »	165	2.8

Die absolute Größe der milchkoagulierenden Wirkung des Pfortnersaftes und des Brunnerschen Saftes entspricht ganz und gar derjenigen ihrer proteolytischen Wirkung. Während die proteolytische Wirkung des Magen- und Pankreassaftes, in den konzentriertesten Sorten derselben, ungefähr gleich groß und jedenfalls bedeutend ist und ihre milchkoagulierende Wirkung sich ebenfalls durch ihre bedeutende und ungefähr gleiche Stärke auszeichnet, ist die proteolytische Wirkung des Pylorussaftes und des Brunnerschen Saftes eine bei weitem geringere: sie kommt der Wirkung der schwächsten Sorten von Magen- und Pankreassaft gleich oder ist sogar geringer als diese: ganz in Übereinstimmung hiermit ist auch die milchkoagulierende Wirkung dieser Saftsorten eine verhältnismäßig schwache. Einen der dies beweisenden Versuche gibt Tabelle XII wieder.

Tabelle XII.

Saftsorten	Verdauungs-kraft in mm (Metz)	Quadrat der Verdauungs-zahlen	Ver-hältnis der Fer-ment-konzen-trationen	Dem Fer-ment-gehalt nach äqui-valente Saft-mengen	Menge der hinzuge-setzten 5%igen Salz-säure	Menge des hinzuge-setzten Wassers	Gerin-nungs-zeit in Min. und Sek.
Aus Pepsindrüsen	2,5	6,25	25	0,1	0,6	1,8	27'
Aus Pfortnerdrüsen	1,2	1,44	5,8	0,43	0,52	1,55	21' 30''
Aus Brunnerschen Drüsen vom Hund Nr. 1	0,6	0,36	1,4	1,79	0,15	0,56	19'
Aus Brunnerschen Drüsen vom Hund Nr. 2	0,5	0,25	1	2,5	0	0	18'

In der ersten Kolonne der Tabelle sind die Saftsorten aufgezählt: uns stand auf das Vierfache mit Wasser verdünnter Saft der Pepsindrüsen eines isolierten kleinen Magens, sodann Saft des isolierten Pfortnerteiles des Magens, drittens Saft aus dem Brunnersche Drüsen enthaltenden und ebenfalls isolierten Abschnitte des Duodenums und schließlich ein ebensolcher Saft von einem anderen Hunde zur Verfügung: die letzten 3 Saftsorten wurden mit 0,5%iger Salzsäurelösung auf das Dreifache verdünnt: wir taten dieses in der Absicht, damit auch

diese Verdauungssäfte eine Acidität von ca. 0.1% zeigten. In der zweiten Kolonne findet man die Verdauungskraft in Millimetern des Eiweißstäbchens ausgedrückt. Die dritte Kolonne enthält die Quadrate der Verdauungszahlen. Die vierte Kolonne enthält Zahlen, welche bezeichnen, wievielmahl mehr Ferment eine jede Saftsorte im Vergleich mit der schwächsten, welche als Einheit genommen ist, aufweist. Die fünfte Kolonne gibt die dem Fermentgehalt nach äquivalenten Mengen der verschiedenen Verdauungssäfte an. In der sechsten Kolonne sind die Mengen der 0.5%igen Salzsäure, welche zu den verschiedenen Saftportionen der vorhergehenden Kolonne hinzugefügt wurden, damit sie alle einen gleichen Säuregehalt zeigten, angegeben: berechnet wurde die hinzuzufügende Menge nach den genauen Titrierwerten sämtlicher Saftsorten. Die siebente Kolonne gibt die Wassermengen wieder, welche den vorhergehenden Portionen hinzugesetzt werden mußten, damit die Flüssigkeitsmenge in ihnen allen ausgeglichen würde. Die so zubereiteten Saftportionen wurden mit je 10 ccm Milch vermischt: sie koagulierten dieselbe in einer Anzahl von Minuten, welche man in der achten Kolonne angegeben findet. Nehmen wir die extremen Zahlen dieser Kolonne, so finden wir, daß die größere von ihnen die kleinere anderthalbmal übertrifft. Würden alle unsere Saftportionen die Milch in ein und demselben Zeitraum koagulieren, so hieße das, daß ihre milchkoagulierende Wirkung der proteolytischen genau proportional ist. Diese Inkongruenz der Zahlen muß als sehr unbedeutend, unsere Schlußfolgerung von der Proportionalität der Wirkungen fast nicht beeinträchtigend angesehen werden. Es muß hierbei erstens in Betracht gezogen werden, daß wir die milchkoagulierende Wirkung von Saftsorten verglichen, die in bezug auf ihren Gehalt an proteolytischem Fermente in ihren äußersten Extremen einander um das 25fache übertreffen. Zweitens ist die proteolytische Kraft der in unserer Tabelle niedriger stehenden Saftsorten eine sehr geringe: dieses Verhalten derselben gibt aber beim Ablesen der Millimetertheile des verdauten Eiweißstäbchens gewöhnlich Anlaß zu unwillkürlicher Verminderung der abzulesenden Zahlen. Bei Betrachtung der Koagulationszahlen aber sieht man, daß sie

von der Proportionalität mit den Verdauungszahlen umsomehr abweichen, je geringer diese letzteren sind. Wir zweifeln nicht, daß wir bei genauerer Bestimmung der Verdauungskraft der verschiedenen Saftsorten in diesem Falle ein genau ebensolches Resultat erzielen könnten, wie wir es oben in einem Versuch mit drei PepsindrüSENSaftsorten verzeichnen konnten. Jedenfalls können wir auf Grund unseres Versuches schon jetzt die Behauptung aufstellen, daß die milchkoagulierende Wirkung des Pförtnersaftes und des Brunnerschen Saftes vollkommen ihrer proteolytischen Wirkung entspricht, d. h., daß ihre milchkoagulierende Wirkung annähernd sovielmal schwächer ist, als wie die entsprechende Wirkung des Magensaftes, wie vielmal die proteolytische Wirkung der ersteren geringer ist, als wie dieselbe Wirkung des letzteren.

Wir sehen also, daß in den vier Verdauungsflüssigkeiten, welche proteolytische Wirkung besitzen, stets auch eine milchkoagulierende Wirkung und zwar in einem der ersteren entsprechenden Maße zu konstatieren ist. In einer jeden derselben nehmen beide Wirkungen unter allen denkbaren physiologischen Bedingungen der Drüsenarbeit einen parallelen Verlauf. Was den latenten oder aktiven Zustand der beiden Aktionen anbelangt, so verhalten sie sich stets gleich: sie befinden sich beide in jeder Saftsorte in demselben Zustande, können aus dem latenten Stadium durch ein und dasselbe Agens und ungefähr gleich rasch in den tätigen Zustand versetzt werden. Bei Aufbewahrung der Verdauungssäfte und Zerstörung derselben unter Einwirkung niedriger und höherer Temperaturen, sowie bei Zersetzung derselben durch verschiedene Reagentien nehmen beide Wirkungen einen vollkommen parallelen Verlauf. Ja noch mehr! Dort, wo wir genauere Untersuchungen vornehmen konnten, ließ sich auch eine exakte Proportionalität beider Wirkungen feststellen.

Auf Grund alles oben Angeführten sehen wir uns berechtigt, vorauszusetzen, daß beide Wirkungen von ein und demselben chemischen Agens abhängen, daß sie verschiedene Reaktionen ein und desselben Fermentes sind.

Wie müssen wir uns nun zu den Tatsachen und Befunden.

mit denen man noch bis heute bewiesen zu haben glaubt, daß beide von uns untersuchten Wirkungen von zwei grundverschiedenen Fermenten ausgeübt werden, stellen?

In Anbetracht der neueren Untersuchungsergebnisse müßten diese Tatsachen von neuem nachgeprüft und beurteilt werden, umso mehr, als in den früheren Schlußfolgerungen ohne viele Mühe einige Fehlerquellen ausfindig gemacht werden konnten. Obgleich es sich hier um mehr oder weniger bekannte Befunde handelt, so waren dieselben doch nicht mit der zur Bestimmung der milchkoagulierenden und proteolytischen Wirkung ausgearbeiteten vergleichenden Methodik abgeschätzt worden.

Diese Tatsachen sind folgende: Gewöhnlich wird angenommen, daß die Quantitäten des milchkoagulierenden Fermentes sich umgekehrt proportional verhalten, wie die Gerinnungszeiten. Man kann sich jedoch leicht überzeugen, daß, wie das von mehreren Autoren hervorgehoben worden ist, diese Regel sich im Falle von schwachen Fermentlösungen als unzulänglich erweist. Dieses äußert sich besonders rasch in den natürlichen Fermentlösungen, d. h. in verschiedenen Verdauungssäften.

Als Beweis hierfür diene Tabelle XIII, welche entsprechende Versuche an mit  $\text{NaHCO}_3$  neutralisiertem Brot- und Milchsagensaft darstellt.

Tabelle XIII.

Brotsaft			Milchsaff			
Milch- quantität	Saft- quantität	Gerinnungs- zeit in Min. und Sek.	Milch- quantität	Saft- quantität	Wasser- quantität	Gerinnungs- zeit in Min. und Sek.
10	0.2	10' 5"	10	2.0	0.0	20' 30"
10	0.1	34' 10"	10	1.5	0.5	55' 45"
20	0.1	159'	10	1.0	1.0	194' 20"

Als Äußerung des Einflusses, den die Verdünnung der Fermentlösungen ausübt, ist augenscheinlich auch die oben vermerkte rasche Abnahme der milchkoagulierenden Wirkung des Milchsaffes im Vergleich mit den anderen Magensaftsorten anzusehen. Dasselbe Ergebnis kann man mit dem Pankreas-

safte und in noch eklatanterer Weise mit dem Safte des Pfortnerteiles und der Brunnerschen Drüsen, welche die allerschwächsten Fermentlösungen darstellen, erzielen. Wir können also das Ferment, welches sicherlich in der Lösung vorhanden ist, sehr leicht aus den Augen verlieren.

Die zweite Erscheinung, welche in der uns interessierenden Frage eine Rolle spielt, ist die zerstörende Wirkung der Alkalien, sogar des Natriumkarbonats (über das Eigenartige dieser Wirkung soll noch weiter unten die Rede sein), eine Wirkung, welche schon seit langem gut bekannt ist. Wie oben berichtet wurde, hatte sogar sehr vorsichtige Neutralisation mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , welche nie über die neutrale Reaktion hinausging, stets Zersetzung des Fermentes zur Folge, und nur bei Neutralisation mit  $\text{NaHCO}_3$  konnte das Ferment unversehrt erhalten werden. Da dieser Unterschied meist nicht beachtet wurde und da die meisten Forscher nicht nur nicht für ideale Neutralisation sorgten, sondern vielmehr ein Überwiegen der alkalischen Reaktion zuließen, in der Absicht, die Koagulation infolge von Fermentwirkung von derjenigen infolge von Säureeinwirkung streng zu trennen, so mußte unbedingt weitgehende Zerstörung des Fermentes stattfinden.

Beide erwähnten Ursachen konnten, wenn sie im Verein miteinander auftraten, leicht das Verschwinden des Fermentes, welchem die milchkoagulierende Wirkung zugeschrieben wurde, vortäuschen. Hierin ist auch augenscheinlich der Grund dafür zu suchen, daß Hammarsten beim künstlichen Magensaft, welcher im Brutschrank gestanden hatte, die proteolytische Wirkung unversehrt fand, während die milchkoagulierende verschwunden war, d. h. gleichsam eine Isolierung beider Fermente beobachtete. Dieselbe Erscheinung beobachteten wir im natürlichen Magensaft, den wir mit Natriumkarbonat neutralisiert hatten.

Wie leicht einzusehen ist, dienen für die Untersuchung beider Wirkungen Methoden von ganz verschiedener Empfindlichkeit, welche durchaus nicht miteinander verglichen werden können. Zur Bestimmung der proteolytischen Wirkung wurde meist ein sehr empfindliches Reagens, das Fibrin, für das es

überhaupt keine Grenze der Empfindlichkeit gibt, angewandt. Zur Untersuchung der milchkoagulierenden Wirkung nahm man neutralisierten Saft, bei welchem im Falle der Verminderung seiner Konzentration sehr bald die Grenze seiner Wirksamkeit erreicht wird; dieser Fall mußte unsomehr eintreten, als die Autoren augenscheinlich aus Furcht, die Milch könnte spontan säuern, ganz willkürlich einen im allgemeinen kurzen Grenztermin für den Eintritt der Gerinnung wählten.

Ein einfaches Beispiel beweist die Richtigkeit unserer Behauptung: nimmt man kräftigen Brotsaft, so kann man ihn mehrere hundert-, sogar tausendmal verdünnen und dennoch sicherlich nach 1,  $1\frac{1}{2}$ —2 Stunden Fibrinauflösung mit demselben erzielen. Derselbe, mit  $\text{NaHCO}_3$  neutralisierte Brotsaft koaguliert sogar, wenn er 10, 20mal verdünnt ist, Milch nur nach vielen Stunden, verdünnt man ihn noch mehr, so bleibt die Milch ganz ungeronnen. Und doch ist leicht einzusehen, daß das milchkoagulierende Ferment weder verschwinden, noch zerstört werden konnte und daß wir sein Vorhandensein leicht nachweisen können, wenn wir für die Koagulationsreaktion günstige Bedingungen schaffen. Hieraus erhellt, daß eine richtige Methodik, welche wir zur Bestimmung der milchkoagulierenden Wirkung des Fermentes anwenden müssen, darin besteht, daß wir die Empfindlichkeit der Koagulationsreaktion erhöhen, indem wir entweder zu dem zu untersuchenden Verdauungssaft, oder zu der Milch Substanzen hinzufügen, die die Koagulation beschleunigen, wie z. B. Säuren, Calcium-, Baryumsalze usw. Die zu vergleichenden Portionen verschiedener Verdauungssäfte müssen, was den Gehalt an die Empfindlichkeit der Reaktion erhöhenden Reagentien anbelangt, natürlich vollkommen ausgeglichen werden und außerdem muß die selbständige koagulierende Wirkung dieser Agentien, wenn sie wirklich besteht, ebenfalls kontrolliert werden. Die Anwendung dieser Methodik bringt durchaus keine Verwirrung in die Sache, denn die die Koagulation fördernden Bedingungen wirken, wie wir weiter unten dartun wollen, nach bestimmten Regeln.

Wenn die koagulierende Fermentwirkung in dem entsprechenden Medium zu sinken beginnt, kann sie durch weiteren

Zusatz des Verdauungssaftes zu der Milch nur bis zu einer gewissen Grenze verstärkt werden, denn neben dem Anwachsen des Fermentgehaltes macht sich dann die Verdünnung der Milch, welche natürlich deren Koagulationsfähigkeit in hervorragendem Maße abschwächt, bemerkbar. Wenn der im Brutschrank stehende Magensaft allmählich zersetzt wird und, mit Soda neutralisiert, die Milch in immer größeren Zeitabschnitten koaguliert, so kann man zu Anfang die Gerinnung fördern, indem man immer mehr Magensaft zur Milch hinzugießt. Hat man jedoch bereits 3—4 ccm zu 10 ccm Milch hinzugegossen, so hilft weiterer Zusatz nicht mehr, zu gleicher Zeit aber koaguliert saurer Magensaft in der Menge von 0,5—1,0 ccm die Milch noch im Laufe einiger Minuten oder einiger Zehner von Minuten. Daß hier die Säure nicht zu einem Irrtum Anlaß gibt, daß es sich in der Tat um eine Fermentwirkung handelt, welche jedoch ohne Säurezusatz nicht in Erscheinung tritt, das beweist ein ganz einfacher Kontrollversuch: erhitzt man den Magensaft auf 70°, so koaguliert 1 ccm desselben die Milch nur nach 10 Stunden, ganz wie 1 ccm 0,5% iger Salzsäure.

Ein dritter Umstand, der bei dem Vergleich der milchkoagulierenden und proteolytischen Wirkung verschiedener Fermentpräparate nicht genügend gewürdigt worden ist, ist die hemmende Wirkung, welche Salze und viele andere Substanzen auf die Reaktion der Eiweißlösung ausüben und welche sich durchaus nicht an der Reaktion der Milchkoagulation äußert.

Auf diesem besonderen Verhalten der Fermente ist augenscheinlich die fabrikmäßige Darstellung von Labfermentpräparaten im wesentlichen begründet. Dem einen von uns (J. Pawlow) ist folgende Episode noch lebhaft im Andenken: als wir zum erstenmal unseren Gedanken in betreff der Identität von Chymosin und Pepsin aussprachen, entgegnete uns Prof. Nencki damit, daß er uns ein ihm zur Verfügung stehendes Labpräparat einer Rigaer Fabrik übergab und uns bat, ihm in diesem Präparate Pepsinwirkung nachzuweisen: die Flüssigkeit rief sehr energische Milchgerinnung hervor, wir mochten sie jedoch ansäuern und verdünnen (2—10mal), wieviel wir wollten, Fibrin ließ sich nicht in ihr verdauen, sondern härtete sich nur: damals

konnten wir trotz aller Mühe diesen Einwand nicht widerlegen; erst später, nach dem Tode unseres teuren Freundes, erwies sich, daß unsere Aufgabe im gegebenen Falle eine ganz leichte war: wir brauchten das Labpräparat nur auf das Hundertfache mit 0,2%iger Salzsäure zu verdünnen und es würde die Fähigkeit erlangen, sogar von gesottenem Eiereiweiß 1,3 mm (Mett) in 10 Stunden zu verdauen. Wollten wir die Verdauungskraft des Fabrikpräparates nach der Regel von Schütze und Borissow berechnen, so würde sie 13 mm betragen, was der hervorragenden milchkoagulierenden Wirkung dieses Präparates vollkommen entspräche. Daß hier das Wesen der Sache in dem Zusatz einer hemmenden Substanz zu dem Labextrakt liegt, kann durch folgende Variation des Versuches nachgewiesen werden.

Tabelle XIV.

Menge des Magensaftes	Menge des hinzugefügten Wassers	Menge des flüssigen Labpräparates	Verdauungskraft in Millimetern (Mett)	Zeit der Milchkoagulation in Gegenwart von 0,3 ccm des Gemisches in Sekunden	Verdauungskraft bei 21 maliger Verdünnung mit Säure
2	1	0	3,9	420	0,7
2	0	1	0,6	50	0,9

Dasselbe Ergebnis konnten wir auch mit vielen anderen, von uns untersuchten Labfermentpräparaten erzielen, in denen die sehr schwach oder auch ganz fehlende proteolytische Kraft eine ihrer milchkoagulierenden Wirkung entsprechende Höhe erreichte, sobald sie in passender Weise angesäuert, verdünnt und dialysiert wurden.<sup>1)</sup>

Wir glauben annehmen zu dürfen, daß die mangelhafte Würdigung der ersten und dritten von den hier aufgezählten

<sup>1)</sup> Wir wenden uns an alle für die Frage interessierten Kollegen mit der Bitte, uns gütigst ein verkäufliches oder ein Laboratoriumpräparat, welches nur eine der beiden Wirkungen äußert und welches nach der Meinung des betreffenden Kollegen unter keinen Bedingungen die andere Wirkung in entsprechendem Grade zu zeigen vermag, zuzusenden.

Tatsachen die Ursache dafür abgibt, daß die vor kurzem von Glässner<sup>1)</sup> vorgeschlagene Methode, welche Dualität der beiden Profermente, des proteolytischen und des milchkoagulierenden, nachweisen sollte, durchaus nicht ihren Zweck erreicht. Wir wandten diese Methode zu wiederholten Malen an und konnten, trotzdem wir die Vorschriften des Autors aufs strengste befolgten, nicht ein einziges Mal die Fermente in Wirklichkeit von einander trennen. Wir versuchten die Menge des zur Bildung eines Niederschlages verwandten essigsäuren Uranyls und phosphorsauren Natrons in der verschiedensten Weise zu variieren, so daß der Niederschlag ganz verschiedene Mengen der Fermente enthielt. Bei reichlichem Niederschlage äußerte die von ihm abfiltrierte Flüssigkeit durchaus keine Fermentwirkung, dafür konnten beide Wirkungen in den aus den Niederschlägen angefertigten Extrakten nachgewiesen werden. War der Niederschlag unbedeutend, so konnten gerade umgekehrte Verhältnisse beobachtet werden. Bei Niederschlägen mittleren Grades sahen wir alle möglichen Übergänge zwischen diesen beiden Extremen. Tabelle XV veranschaulicht diese Verhältnisse.

Tabelle XV.

Art und Herkunft der Flüssigkeit	Zeitraum in Sekunden, nach welchem 0.5 ccm der Flüssigkeit Milchgerinnung hervorriefen.	Verdauungskraft in mm (Mett)
Eiweißfreie Lösungen der Profermente Von dem nach Vermengung von 10 ccm der verbergenden Flüssigkeit mit 10 ccm phosphorsauren Natrons und 10 ccm essigsäuren Uranyls (3%) sich bildenden Niederschlage abfiltrierte Flüssigkeit . . . . .	6 Sekunden  keine Koagulation zu beobachten	6.2  0
Extrakt des oben erwähnten Niederschlages . . . . .	8 Sekunden	4.4
Von dem nach Vermengung von 10 ccm einer anderen eiweißfreien Profermentlösung mit 10 ccm phosphorsauren Natrons und 10 ccm essigsäuren Uranyls (1%) entstehenden Niederschlage abfiltrierte Flüssigkeit . . . . .	45 Sekunden	2.5
Extrakt des entstandenen Niederschlages	25	3.3

<sup>1)</sup> Beitr. z. chem. Physiol. u. Path., Bd. I, 1901.

Die Verschiedenheit unserer Ergebnisse und derjenigen Glässners hat ihren Grund, wie wir glauben, darin, daß er erstens in dem Filtrate die hemmende Wirkung des sich bildenden essigsäuren Natrons (s. Tab. VI) auf die Eiweißlösungsreaktion nicht mit in Rechnung zieht und zweitens für die Koagulationsreaktion eine willkürliche und sehr beschränkte (30 Min. für die Gerinnung eines Liters Milch) Zeitgrenze steckt. Wir können uns einen solchen Fall denken: der Niederschlag enthält  $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{4}$  des Fermentes,  $\frac{2}{3}$ — $\frac{3}{4}$  desselben sind im Filtrate zurückgeblieben, hier aber stört der Gehalt an essigsäurem Natron die Äußerung der proteolytischen Fermentwirkung und läßt nur die milchkoagulierende Wirkung zur Geltung kommen. Wird nun das Ferment aus dem Niederschlage extrahiert, so befreit es sich dank der Verdünnung mit der extrahierenden Flüssigkeit von der hemmenden Wirkung des essigsäuren Natrons, d. h. es gerinnt seine proteolytische Fähigkeit in bedeutendem Maße wieder: zu gleicher Zeit aber wird die milchkoagulierende Fähigkeit von ihm eingebüßt, da die Verdünnung eine zu bedeutende ist.

Ebenso erwies sich bei genauer Untersuchung auch die zweite Methode von Hammarsten als unzweckmäßig. Er beginnt bekanntlich damit, daß er den künstlichen Magensaft zu wiederholten Malen mit Magnesiumkarbonatpulver umschüttelt: hierbei soll seiner Meinung nach das Pepsin mit dem Pulver zusammen in den Niederschlag übergehen, während das Chymosin in der Lösung zurückbleibt; weiter folgt die Reinigung des Labferments. Wir wiederholten die erste Phase der Methodik mit natürlichem Magensaft und konnten dieselben Vorgänge, welche Hammarsten vor Augen hatte, verfolgen: das (3., 4. und 5.) Filtrat koagulierte Milch sehr energisch, obzwar nicht so rasch, wie die normale Flüssigkeit; bis zu normaler Acidität (0.5%) ohne Verdünnung oder bei nur schwacher Verdünnung angesäuert, verdaute es rohes Fibrin sogar im Laufe von 24 Stunden ganz und gar nicht. Wir brauchten aber das Filtrat mit 0.1—0.2% Säure nur auf das 5—10fache zu verdünnen, damit die fibrinlösende Wirkung ganz deutlich zutage trat. Und so oft wir auch den vordem neutralisierten Saft mit Magnesiumkarbonat schüttelten, so konnten wir dennoch kein Filtrat er-

halten, welches unter den erwähnten Bedingungen keine fibrinlösende Fähigkeit besäße. Auf diese Weise konnten wir dem scheinbar fraglich gewordenen Parallelismus wieder zu seinem Recht verhelfen und uns befriedigt fühlen. Später aber, als uns der Parallelismus der Wirkungen nicht mehr befriedigte und wir überall eine, wenn auch annähernde Proportionalität zu suchen begannen, bot uns dieser Punkt ungeheure Schwierigkeiten und rief in uns sogar bittere Zweifel in betreff der Richtigkeit unseres Grundprinzips wach, obgleich wir bereits über eine große Reihe von Befunden, die dasselbe bestätigten, verfügten. Als wir versuchten, die milchkoagulierende und proteolytische Wirkung des nach Schütteln mit Magnesiumkarbonat gewonnenen Filtrates genauer zu vergleichen, konnte uns die hervorragende Unproportionalität beider Wirkungen nicht entgehen. Während wir aus der milchkoagulierenden Wirkung des Filtrates schließen konnten, daß das entsprechende Ferment eine Verminderung, welche einigemal bis einige Zehner von Malen betrug, erfahren hatte, war von dem proteolytischen Fermente, seiner Wirkung nach zu urteilen, nur noch ein Bruchteil, welcher einige Hundertstel bis Tausendstel des anfänglichen Wertes ausmachte, übrig geblieben. Wir beachteten alle uns nur denkbaren Umstände, wir bestimmten und beseitigten die hemmende Wirkung, welche das bei der Neutralisation des Saftes entstehende Chlornatrium auf die proteolytische Reaktion ausübte. Wir bestimmten die die Milchgerinnung fördernde Wirkung der geringen Menge von Magnesiumkarbonat, welche sich beim Umschütteln in der Flüssigkeit auflöste, und zogen sie gleichfalls in Betracht. Wir erprobten alle möglichen Grade der Acidität, jedoch änderte sich an der Tatsache nur sehr wenig: die erwähnten Maßnahmen veränderten das Ergebnis in nur sehr unbedeutendem Maße. Hierbei sammelten sich jedoch Beobachtungen an, welche unser Augenmerk auf den springenden Punkt richteten. Indem wir die bei wiederholtem Umschütteln mit Magnesiumkarbonat nacheinander erhaltenen Filtrate titrierten, bemerkten wir, daß ihre Alkaleszenz (welche sie den geringen Mengen in ihnen gelösten Magnesiumkarbonats verdanken) allmählich bis zu einer gewissen Grenze anwächst

und daß mit ihr zusammen auch die proteolytische Wirkung des Filtrates abnimmt. Dieses ließ uns vermuten, ob nicht die Alkaleszenz des Filtrates in diesem Falle die Hauptrolle spielt. Deshalb wandten wir uns vor allem zu dem nach dem Umschütteln sich bildenden Magnesiumkarbonatniederschlag und untersuchten, ob er wirklich alles Pepsin mit sich genommen hatte. Nachdem wir den Niederschlag mit Salzsäure aufgelöst, die Lösung in genügendem Grade verdünnt hatten, um die hemmende Wirkung des Chlormagnesiums zu beseitigen, und sie sodann in entsprechender Weise angesäuert hatten, konnten wir uns zu wiederholten Malen überzeugen, daß keine bedeutende Pepsinausscheidung mit dem Niederschlage stattgefunden hatte. Die erhaltene Lösung äußerte eine im Vergleich zu dem Filtrate verschwindende proteolytische und milchkoagulierende Wirkung. Es wurde also klar, daß der Mechanismus der in der ersten Phase der Hammarstenschens Methode zu beobachtenden Erscheinungen ein durchaus anderer ist, als wie man ihn sich bis jetzt vorstellte. In Wirklichkeit war er nichts weiter, als wie die schon längst bekannte Zersetzung oder chemische Veränderung des Fermentes unter Einwirkung von Alkalien. Wenn nun aber auch die Eigenschaften des Filtrates ein Ergebnis der Einwirkung des Alkalis waren, so mußten wir in Anbetracht dessen, daß die beiden Wirkungen im Filtrate auseinander gingen, dennoch zugeben, daß Alkalien das proteolytische Ferment stärker zersetzen, als wie das milchkoagulierende. Indem wir nun aber einige besondere Befunde, welche uns aufgefallen waren, als wir uns mit Versuchen über die zersetzende Wirkung von Alkalien auf den Magensaft beschäftigten, in Betracht zogen, hielten wir nach wie vor an unserem Standpunkte fest und versuchten, die Proportionalität zwischen beiden Wirkungen, welche uns fortwährend sozusagen unter den Händen entglitt, wieder herzustellen. Schließlich wurde unsere Geduld belohnt. Bei einer scheinbar ganz belanglosen Variation unseres Versuches sahen wir plötzlich, daß das Filtrat eine durchaus nicht geringere, sondern eher sogar bedeutendere proteolytische Wirkung äußerte, als man auf Grund seiner milchkoagulierenden Wirkung erwarten konnte. Bisher hatten wir das nach Ver-

mengung mit dem Magnesiumkarbonat alkalisch gewordene Filtrat vor den Verdauungsversuchen sofort bis zu einem gewissen Grade angesäuert. Jetzt neutralisierten wir es zu Anfang nur, ließen es so einige Zeit lang stehen und säuerten es dann erst bis zu demselben Grade an. Nun konnten wir in dem Filtrate die so heiß ersuchte proteolytische Wirkung in vollem Maße nachweisen.

Tabelle XVI.

Art der Verdauungs- flüssigkeit	Ver- dauungs- kraft in mm (Mett)	Verhältnis der Ferment- mengen. nach den Ver- dauungs- zahlen berechnet	Zeit der Milch- gerinnung mittels 1 ccm der neu- tralisierten Flüssigkeit in Minuten und Sekunden	Verhältnis der Ferment- mengen. nach den Ge- rinnungs- zahlen berechnet
Mit $\text{NaHCO}_3$ neutralisierter Magensaft . . . . .	6.4	1	53 Sekunden	1
Das III. Filtrat nach Um- schütteln mit $\text{MgCO}_3$ zu dem Verdauungsver- suche sofort angesäuert	0.0	> 4000	66 Minuten	75
Dasselbe Filtrat, anfangs nur neutralisiert, nach einigen Stunden eben- falls angesäuert . . . .	1.8	13	42 Minuten	48

Es erwies sich also, daß auch diese Methode von Hammarsten durchaus nicht die Möglichkeit gibt, das Ferment in zwei Bestandteile zu zerlegen. Dieses Ergebnis unserer die erste Phase der Methode betreffenden Untersuchungen machte natürlich das Studium der zweiten Phase unnütz.

Die Tatsache aber, welche wir hierbei unerwartet festgestellt hatten, verdiente natürlich in vollem Maße von uns beachtet zu werden. Wir sahen das Ferment unter Einwirkung der alkalischen Reaktion aus dem tätigen in einen untätigen, latenten Zustand übergehen, wobei die umgekehrte Umwandlung, der Übergang aus dem latenten in den tätigen Zustand,

längere Zeit dauernde neutrale Reaktion des Mediums (welche durch Gegenwart von Milch geschaffen werden kann) erfordert. Speziell in bezug auf diesen Punkt haben wir einige Versuche angestellt, von denen wir hier einen wiedergeben wollen.

Tabelle XVII.

Nach Umschütteln mit  $MgCO_3$  neutralisiertes Filtrat

Dauer der neutralen Reaktion des Mediums vor der Ansäuerung	Verdauungskraft in Millimetern (Mett)
23 Sekunden	0.0
5 Minuten	0.4
15 »	0.6
30 »	0.8
1 Stunde	1.0
2 Stunden	1.2
3 »	1.4
4 »	1.5

In betreff dieser Versuche muß bemerkt werden, daß bei sofortiger Ansäuerung der alkalischen Flüssigkeit bis zu saurer Reaktion sie sich trübt und einen Niederschlag ausscheidet, was alles ausbleibt, wenn die Ansäuerung in zwei Stadien, mit einer langdauernden Ruhepause (von mehreren Stunden) bei der neutralen Reaktion des Mediums, ausgeführt wird. Da diese Tatsache augenscheinlich mit verschiedenen Fragen, die zu den Fermenten Beziehung haben, wie z. B. Einwirkung der Alkalien, verschiedene Zustände der Fermente usw., in direkter Beziehung steht, so bildet ihr Studium den Gegenstand spezieller Untersuchungen, welche jetzt in unserem Laboratorium im Gange sind.

All unser Tatsachenmaterial entzieht, wie wir glauben anzunehmen dürfen, der althergebrachten Meinung, daß die proteolytische und die milchkoagulierende Fermentwirkung speziellen Fermenten angehören, jeglichen Boden unter den Füßen. Tatsache ist, daß diese Wirkungen niemals und unter

keinen Bedingungen, weder im Organismus, noch außerhalb desselben, scharf voneinander getrennt werden können. Es sind wohl noch vereinzelte Angaben über die vollständige Trennung beider Wirkungen gemacht worden; obgleich wir dieselben bis jetzt jedoch noch nicht nachgeprüft haben, sehen wir uns im Rechte, ihnen keine besondere Beweiskraft zuzuerkennen, da wir schon früher Gelegenheit gehabt haben, die Mängel der allgemein angewandten Methodik der vergleichenden Untersuchung dieser Wirkungen aufzudecken.

Wir haben uns aber schon längst die allgemeinere Bedeutung besitzende Frage vorgelegt: widerspricht unserer Behauptung, daß beide Wirkungen ein und demselben Fermente angehören, nicht die Tatsache, daß für beide Wirkungen zwei verschiedene Regeln, nach denen sie von der Menge des Fermentes abhängen, bestehen? Dieses schien auch Hammarsten ein wesentlicher Einwand gegen unsere Anschauungen zu sein, wie wir aus der neuesten Ausgabe seines Lehrbuches der physiologischen Chemie erfuhren, während wir mit dem Niederschreiben vorliegender Veröffentlichung beschäftigt waren.

Die uns interessierenden beiden Wirkungen, die Lösung des Eiweißes und die Gerinnung der Milch, sind jedenfalls verschiedene Reaktionen. Wenn dem so ist, so brauchen die Regeln, nach denen die Dauer der Reaktion von der Menge des Fermentes abhängt, für beide durchaus nicht die gleichen zu sein. Die Zeitdauer der Reaktion hängt von den Reaktionsbedingungen, welche dieselbe bald beschleunigen, bald verlangsamen, ab. Den verschiedenen Bedingungen entsprechend, müssen sich auch die Regeln für die Abhängigkeit der Zeitdauer der Reaktion von der Menge des vorhandenen Ferments verändern. In der Absicht, diese Behauptung mit einem hinreichenden Tatsachenmaterial zu bekräftigen, stellten wir mehrere Reihen von Versuchen an, wo wir eine entsprechende Veränderung der die Reaktionen betreffenden Regeln dadurch erzielten, daß wir die Reaktionsbedingungen veränderten. Eine neutrale Lösung des milchkoagulierenden Fermentes ruft Milchgerinnung an, angenommen, daß sein Gehalt in der Flüssigkeit einer gewissen, genügenden Konzentration entspricht, nach der Regel der um-

gekehrten Proportionalität zwischen der Quantität des Fermentes und der Gerinnungszeit hervor. Obgleich dieses schon längst bekannt ist, erlauben wir uns dennoch, eine diesen Versuch betreffende Tabelle wiederzugeben, um einen anschaulichen Vergleich mit den späteren Versuchen zu ermöglichen.

Tabelle XVIII.  
Mit  $\text{NaHCO}_3$  neutralisierter Magensaft.

Menge des Saftes in ccm	Gerinnungszeit in Minuten und Sekunden
0.8	2 Min. 30 Sek.
0.4	5 " — "
0.2	10 " 20 "

Nehmen wir eine saure Lösung desselben Fermentes und setzen wir verschiedene Mengen derselben zu der Milch, so verändern wir nun in der Milch den Gehalt, sowohl an Ferment, als auch an Säure in ein und demselben Verhältnis, d. h. wenn wir z. B. die Menge des Fermentes um das Doppelte vergrößern, so wächst zugleich auch die Menge der Säure auf das Doppelte an. In diesem Falle tritt anstatt der ersten Regel eine zweite in Kraft: jetzt verhalten sich nämlich die Mengen des Fermentes umgekehrt proportional, wie die Quadratwurzeln der Gerinnungszeiten, d. h. die Reaktion wird fortlaufend beschleunigt. Dieses ist in Tabelle XIX deutlich wiederzuerkennen.

Tabelle XIX.  
Saurer Magensaft.

Menge des Saftes in ccm	Gerinnungszeit in Minuten	Quadratwurzeln der vorhergehenden Zahlen
0.1	11 Minuten	3.3
0.2	3 "	1.7
0.3	1.25 "	1.1

Genau dieselben Verhältnisse sind auch dann zu beobachten, wenn in der Fermentlösung die Milchgerinnung beschleunigende Salze enthalten sind. Wenn z. B. natürlicher Magensaft mit kohlensaurem Baryt neutralisiert und die so neutralisierte Flüssigkeit in verschiedenen Verhältnissen mit gleichen Milchportionen vermischt wird, so koaguliert sie die Milch ebenfalls nach der zweiten Regel. Als Beweis hierfür diene Tabelle XX.

Tabelle XX.  
Mit  $\text{BaCO}_3$  neutralisierter Magensaft.

Menge des Magensaftes in ccm	Gerinnungszeit in Minuten	Quadratwurzeln der vorhergehenden Zahlen
0.1	95 Minuten	9.8
0.2	23 "	4.9
0.3	10 "	3.2
0.5	3.5 "	1.9

Nimmt man schließlich eine bedeutend verdünnte neutrale Fermentlösung und vermischt man sie in verschiedenen, jedoch bedeutenden Quantitäten (um die Grenze der Fermentwirkung nicht zu erreichen) mit der Milch, so kann man oft eine dritte Regel walten sehen, welche lautet: die Quantitäten des Fermentes verhalten sich wie die Quadrate der Gerinnungszeiten. Augenscheinlich verlangsamt die Milchverdünnung, welche dem Anwachsen des Fermentgehaltes streng proportional bleibt, die Gerinnungsreaktion. Tabelle XXI veranschaulicht diese Verhältnisse aufs deutlichste.

Tabelle XXI.

Mit  $\text{NaHCO}_3$  neutralisierter und auf das 10fache mit Wasser verdünnter Magensaft.

Menge des Saftes in ccm	Gerinnungszeit in Minuten	Quadrate der Gerinnungszahlen
1	10.5 Minuten	110
3	6 "	36
6	4.25 "	17

Genau ebenso kann auch die Regel, welche die Abhängigkeit der Eiweißlösung von der Menge des Fermentes bedingt, entsprechend den Reaktionsbedingungen modifiziert werden. Gewöhnlich, wenigstens in gewissen Grenzen der Konzentration des Fermentes, besteht für die Beziehung zwischen dem Fermentgehalt und der Fermentwirkung (der Anzahl Millimeter des in ein und demselben Zeitabschnitte verdauten Eiweißstäbchens) die Regel, daß die Fermentmenge und die Quadrate der Millimeterzahlen direkt proportional sind. Die Zahlen eines entsprechenden Versuches sollen den Vergleich mit dem gleich zu Berichtenden erleichtern.

Tabelle XXII.

Normaler, mit 0,35%iger Salzsäure verdünnter Magensaft.

Wievielmal der Saft mit Säure verdünnt wurde	Verdauungskraft in Millimetern (Mett)	Quadrat der Verdauungszahlen
8	3.9	15.21
16	2.8	7.84
32	2.0	4.00
64	1.4	1.96

Nimmt man jedoch eine schwache Saftsorte und verdünnt sie nicht mit Säure, wie im vorhergehenden Versuche, sondern mit Wasser, so wird das gegenseitige Verhältnis zwischen Fermentmenge und Fermentwirkung (Millimeter des verdauten Eiweißstäbchens) durch eine neue Regel bedingt, welche lautet, daß die Fermentmenge und die Zahl (und nicht ihr Quadrat) der Millimeter des verdauten Eiweißstäbchens direkt proportional sind.

Tabelle XXIII.  
Normaler, mit Wasser verdünnter Magensaft.

Wievielmals der Saft mit Wasser verdünnt wurde	Verdauungskraft in Millimetern	
	eines Eiereiweiß- stäbchens	eines Serum- albuminstäbchens
8	2.2	4.6
12	1.5	3.3
16	1.1	2.3
20	0.85	1.8
24	0.75	1.5
32	0.5	1.1

Letzteres Verhältnis erklärt uns auch den wahren Sinn der ersten Regel in betreff der Eiweißlösungsreaktion. Sobald wir die Fermentlösung mit Säure verdünnen, so modifizieren wir augenscheinlich hiermit nicht, wie uns anfänglich schien, nur einen Faktor, nämlich die Konzentration des Fermentes, sondern zwei: außer dem Fermentgehalte in dem Medium vergrößern wir in fortlaufender Progression auch den relativen Säuregehalt im Vergleich zu demjenigen des Fermentes, womit wir die Reaktion progressiv beschleunigen. Bei Verdünnung mit Wasser aber verändert sich in Wirklichkeit nur der Fermentgehalt in dem Medium, während das Verhältnis zwischen Ferment- und Säurekonzentration das nämliche bleibt, d. h. die Reaktion wird nicht beschleunigt. Dieses ist ein Fall von Eiweißlösungsreaktion, welcher der gewöhnlichen Milchgerinnung mit reiner neutraler Fermentlösung vollkommen analog ist.

Auf diese Weise hat also der Einwand, welcher anfangs gewichtig schien, seine ganze Bedeutung verloren. Die Tatsache aber, daß die Regeln der Abhängigkeit der Fermentwirkung von der Fermentmenge durch äußere Bedingungen verändert werden können, erfordert natürlich ein umfassenderes und systematisches Studium, da alle diese Regeln nur für gewisse Grenzen Gültigkeit besitzen.

Als nicht zu mißachtende allgemeine Bestätigung der Richtigkeit unserer Grundidee ist, außer allen angegebenen

vereinzelt Tatsachen, noch das anzusehen, daß wir, indem wir an der Idee systematisch festhielten und zuweilen gerade da, wo die Sachlage zu Anfang augenscheinlich gegen sie sprach, auf neue Tatsachen von bedeutender Tragweite stießen.

Wenn man deshalb jetzt noch daran festhalten wollte, daß beide Wirkungen von verschiedenen Fermenten ausgehen, im Organismus aber stets zusammen und zudem noch in denselben quantitativen Beziehungen angetroffen werden, so könnte man das nur aus althergebrachter Gewohnheit tun, für die sich gegenwärtig keine Rechtfertigung finden läßt.

Wir behaupten also, daß beide Wirkungen ein und demselben Ferment angehören. Wie hat man nun diese Dualität der Wirkung ein und desselben Fermentes zu verstehen?

Die erste Frage, von der man ausgehen muß, betrifft natürlich die Reaktion der Milchkoagulation. Was stellt diese vom physiologischen und chemischen Standpunkte dar? Es muß eingestanden werden, daß diese Reaktion, was ihre physiologische Bedeutung anbetrifft, lange Zeit über ganz rätselhaft erschien. Wenn die bei Säugetieren in gewissem Maße als nützliche Anpassung, welche bei der Bearbeitung der Milch im Magendarmkanal eine Rolle spielt, betrachtet werden konnte, so war bei allen anderen Tieren und bei den Pflanzen, wo es an einem Substrat für die Wirkung des Labfermentes fehlt, ihr Zweck ein ganz dunkler. Wir glauben nicht fehlzugehen, wenn wir hierin ein Beispiel jenes gleichgültigen und natürlich durchaus nicht zu verteidigenden Objektivismus sehen, welcher ruhig an höchst bemerkenswerten Tatsachen vorübergeht, ohne sich die augenscheinlich naheliegende Frage vorzulegen: Wozu kommt bei verschiedenen Tieren und Pflanzen das Labferment vor, wenn es niemals mit Milch in Berührung kommt? Würde diese Frage mit Konsequenz aufgeworfen, so müßte man sie in dem Sinne beantworten, daß die Milchkoagulation eine spezielle, für den Experimentator nur zufällige Äußerung einer allgemeinen Reaktion ist. Das Verdienst, diese Schlußfolgerung gemacht zu haben, gehört Prof. A. Danilewsky an, welcher in der Milchkoagulation eine Komplikation des Eiweißmoleküls sah, ganz entsprechend der Vereinfachung desselben, welche

unter Einwirkung der Eiweißfermente, wie Pepsin u. a. m., stattfindet. Und in der Tat ist es ihm dementsprechend gelungen, in Gemeinschaft mit seinem Schüler, Dr. Okunew, Koagulation einiger Albumosen durch Labfermentpräparate nachzuweisen. Was könnte man in der Tat gegen die Voraussetzung einwenden, daß die Milchkoagulation das einfachste Stadium der langen Reihe der Synthese von Eiweißkörpern darstellt. Gegen diese Voraussetzung sind keine ernstlichen Einwände zu machen, zu ihren Gunsten aber läßt sich einiges anführen. Casein und Paracasein werden von allen als chemisch sehr nahestehende Körper angesehen. Unterdesssen aber bleibt unter denselben Bedingungen das eine in der Lösung, während das andere fällt nieder. Es ist ganz natürlich, daß man in diesem Falle annimmt, daß das Molekül der zweiten Substanz komplizierter ist. Diese Annahme wird durch die vor kurzem veröffentlichten Versuche Löwenhardts<sup>1)</sup> sehr begünstigt.

Jetzt, wo der früheren Theorie, daß die milchkoagulierende und die proteolytische Wirkung verschiedenen Fermenten angehören, der Boden unter den Füßen geschwunden ist, kommt man in natürlicher Weise zu der Ansicht, daß beide Reaktionen verschiedene Wirkungen ein und desselben Eiweißfermentes sind. Wenn die theoretisch vorhergesehene doppelseitige Wirkung der Fermentreaktionen für die Fett- und Kohlehydratfermente ihre vollständige Bestätigung gefunden hat, warum sollte dann das Eiweißferment eine Ausnahme bilden? Wenn aber auch dieses Ferment mit derselben Eigenschaft behaftet ist, weshalb soll man dann dieselbe in weiter Ferne suchen, da ja die dem Eiweißferment zukommende rätselhafte milchkoagulierende Wirkung am einfachsten eben von diesem Standpunkte aus zu erklären ist.

Es kann angenommen werden, daß auch die Blutgerinnung und die Umwandlung von Pankreassaft in Gallerte, welche Dr. Lintwarew<sup>2)</sup> beschrieben hat, zur selben Kategorie von Erscheinungen gehören. Die Gerinnung des Pankreassaftes findet unter folgenden Bedingungen statt: Setzt man zu dem viel

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLI.

<sup>2)</sup> Inaug.-Dissert. St. Petersburg, 1901 (russisch).

Eiweiß enthaltenden zymogenen Pankreassaft Kinase hinzu, so verwandelt sich der Saft rasch in ein festes, durchsichtiges Gerinnsel, und es kann dann das Probierröhrchen umgekippt werden, ohne daß sein Inhalt herausfließt.

Wir glauben, daß die biologische Chemie, sobald sie die in zwei entgegengesetzten Richtungen sich abspielenden Reaktionen der Eiweißfermente, von denen gegenwärtig bereits eine ganze Reihe, wahrscheinlich für die verschiedenen Stadien der Eiweißzersetzung bestimmt bekannt sind, anerkennen wird, hiermit den geraden Weg betreten muß, der zur Lösung der für diese Wissenschaft wichtigsten Frage, der Frage von der Synthese der Eiweißsubstanz, führt.

Außer der eben erwähnten allgemeinen Bedeutung, welche unsere Annahme, daß nämlich beide Reaktionen ein und demselben Fermente zu verdanken sind, hat, verspricht sie noch eine bedeutende Vereinfachung der Methodik der quantitativen Fermentbestimmung, wovon wir übrigens bereits zu wiederholten Malen Gebrauch gemacht haben. Zu diesem Zwecke kann nämlich die milchkoagulierende Wirkung bedeutend bequemer angewandt werden, als wie die proteolytische Reaktion: sie verläuft bedeutend rascher, ist leichter zu ermessen und in chemischer Beziehung weniger von allerhand sonstigen Einwirkungen abhängig.

Wir sehen von einer genauen Übersicht der die Milchkoagulation behandelnden Literatur ab, da wir keine neuen, diese Frage betreffenden Entdeckungen machen konnten. Der Schwerpunkt unserer Arbeit lag in der Anwendung längst bekannter Tatsachen für die Vervollkommnung der Methodik der vergleichenden quantitativen Bestimmung von proteolytischem und milchkoagulierendem Ferment.

Andererseits müssen wir jedoch auf der Unabhängigkeit unserer Angabe von der Identität der beiden Fermente bestehen. Die schon früher in der deutschen Literatur von Sieber und Nencki<sup>1)</sup> einerseits und von Pekkelharing<sup>2)</sup> andererseits gemachten Angaben, daß Chymosin und Pepsin identische Fer-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXXII.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXXV.

mente sind, stimmen erstens nicht ganz mit der unserigen überein: diese Autoren geben sozusagen eine teilweise Identität beider Fermente zu, glauben jedoch, daß ein jedes derselben mit verschiedenen Supplementgruppen behaftet ist: außerdem liefern sie fast gar keine Beweise (wenn man von beiläufiger Erwähnung mehrerer Fälle von parallelem Verhalten beider Fermente absieht) für die von ihnen aufgestellte Behauptung: eher kann man annehmen, daß sie diese Behauptung aufstellen mußten, um das von ihnen aus natürlichem Magensaft gewonnene Produkt als chemisches Individuum betrachten zu können. Zweitens hat der eine von uns (J. Pawlow) den Gedanken von der Identität beider Fermente in dem Sinne, wie er in unserer Abhandlung gemeint ist, noch geäußert,<sup>1)</sup> ehe die Arbeiten oben erwähnter Autoren im Drucke erschienen waren. Anlaß zu vorliegender Bemerkung hat die mehrmals gemachte Annahme, daß unsere Ergebnisse und unser Grundgedanke nur eine weitere Entwicklung der von diesen Autoren aufgestellten Behauptung darstellen, gegeben.

Über die oben erwähnten Ergebnisse unserer Arbeit haben wir in kurzen Mitteilungen in mehreren Sitzungen der Gesellschaft russischer Ärzte zu St. Petersburg (1902 und 1904), auf der Naturforscherversammlung zu Helsingfors im Jahre 1902 und auf dem internationalen Kongreß zu Madrid (1903) berichtet.

An unseren neuesten Versuchen, welche die Proportionalität beider Wirkungen betreffen, hat Herr Dr. N. P. Tichomirow regen Anteil genommen, wofür wir ihm unseren wärmsten Dank sagen.

<sup>1)</sup> Verhandlungen der Gesellschaft russischer Ärzte zu St. Petersburg. Sitzungsprotokolle der Gesellschaft für das Jahr 1900–1901. Sitzung vom 21. I. 1901 (russisch).