

Beiträge zur Kenntnis der Trypsinwirkung.

II. Mitteilung.

Die Frage nach dem Vorkommen von Erepsin im Pankreas.

Von

Dr. Karl Mays.

(Aus dem physiologischen Institut zu Heidelberg.)

(Der Redaktion zugegangen am 30. Juli 1906.)

Inhalt: Einleitung.

Kritik der Versuche Vernons.

Eigene Untersuchungen.

1. Methoden.

2. Verhältnis von tryptischer und ereptischer Wirkung:

a) bei Extrakten und Präparaten aus frischem Rindspankreas.

b) bei Extrakt aus Kühnes Trockenpankreas,

c) bei Extrakten aus Katzenpankreas.

3. Analogien bei Erstprodukten der Pankreasverdauung.

Schlußbetrachtungen.

Wenn man die Arbeiten L. Corvisarts über die lösende Wirkung des Pankreas auf die Eiweißkörper¹⁾ durchliest, so ist man immer wieder erstaunt, wie seine ausgedehnten und genauen Untersuchungen über diesen Gegenstand so lange auf Widerspruch gestoßen sind, und doch versteht man es, wenn man sich längere Zeit mit dem Studium der proteolytischen Wirkung dieser Drüse beschäftigt hat: denn die Resultate, die man dabei erhält, sind so wechselvoll, und die Bedingungen, die die Wirkung des Sekretes oder der Extrakte der Drüse beeinflussen, so mannigfaltig, daß man die Verschiedenheit der Ergebnisse verschiedener Forscher begreifen kann. Der Fehler aber, der nicht nur von den direkten Nachuntersuchern Corvisarts, sondern auch von manchen, die sich später noch mit der Wirkung des Pankreas beschäftigt haben, gemacht wurde, war der, daß sie, diese Verschiedenheit der Wirkung unter verschiedenen Bedingungen übersehend, aus zu wenigen Experimenten allgemeine Schlüsse gezogen haben.

¹⁾ Die meisten darauf bezüglichen Arbeiten Corvisarts sind zusammengefaßt in: «Collection de Mémoires sur une fonction méconnue du Pancréas». Paris, Victor Masson et fils, 1857—1865.

Dazu war die Wirkung des Pankreas noch mit dem Fluche der interkurrierenden Fäulnis beladen, von dem sie erst Kühne durch die systematische Anwendung der Desinfektionsmittel befreit hat. Die Verwirrung, die daraus entstand, ging so weit, daß man sogar Produkte, die später als solche der wahren Pankreasverdauung erkannt wurden, bei ihrem Auftreten der Fäulnis zuschob. So war wohl Skrebitzki¹⁾ der erste, der bei der Pankreasverdauung «Leucinkrystallisationen» auftreten sah, der aber diese Versuche verwarf, weil er eben daraus auf Fäulnis schloß.

Bekanntlich hat Kühne schon lange Zeit vor der Anwendung der Desinfektionsmittel große Mengen von Leucin und Tyrosin als wahre pankreatische Verdauungsprodukte gefunden. Damals aber hatte Kühne²⁾ der Pankreasverdauung noch eine viel weitergehende Wirkung zugeschrieben: denn er sah nicht nur das Pepton schwinden, sondern auch Leucin und Tyrosin, und fand, daß dabei ein Körper auftrat, der nach Naphthylamin (oder Indol) roch, ohne daß Fäulnis eingetreten war, d. h. ohne daß bei dem Versuche Mikroorganismen nachweisbar waren. Als er später bei seinen sterilisierten Verdauungsgemischen den Prozeß nie wieder so weit gehen sah, legte er sich die Frage vor, ob daran nicht etwa eben die Desinfektionsmittel schuld wären, und er stellte nochmals besondere Versuche ohne solche an, die bei großer Sorgfalt und Sauberkeit des Arbeitens, namentlich im Winter, gelangen:³⁾ aber auch dabei trat niemals Indol auf, so daß bei jenen früheren Versuchen Kühne die Bakterien, die es damals gebildet hatten, wohl entgangen waren. Kühne stellte die neueren Versuche mit gereinigtem Material an, klar filtrierte Pepsin-Peptonlösungen und «reinem Trypsin» oder nach dem v. Wittichschen oder Hüfnerschen Verfahren hergestellten Enzymlösungen. Ob man auf diese Weise das unveränderte oder alle proteolytisch wirkenden Enzyme des Pankreas erhält, bleibt noch dahingestellt, und es wäre wohl

¹⁾ S. Meißners Jahresber. f. 1859, Anhang zur Zeitschrift f. rat. Med., 1861, S. 244.

²⁾ Virchows Archiv, Bd. XXXIX, S. 130.

³⁾ Unters. d. physiol. Inst. zu Heidelberg, Bd. I. S. 304.

angezeigt, Kühnes erste Versuche ohne Desinfektionsmittel mit Pankreassaft oder dem Infus der Drüse zu wiederholen, wenn es gelänge, auch dabei die Fäulnis hintanzuhalten.

Kühne hat bei den neueren Versuchen als Pankreaswirkung die Spaltung des Eiweißes in zwei Hälften angesehen, von denen die eine beim Pepton stehen blieb, die andere in krystallinische Zersetzungsprodukte gespalten wurde, die er aber jetzt auch für definitive Produkte der Pankreasverdauung erklärte.

Die Untersuchungen Kutschers¹⁾ haben ein anderes Bild der Pankreasverdauung gegeben: Er fand bei einem aus Kühneschem Trockenpankreas hergestellten Infuse nach monatelanger Digestion bei 40° C. die Biuretreaktion so gut wie verschwunden und zerlegte das Kühnesche Antipepton auch in krystallinische Produkte, und auch in der kurzen Zeit von 48 Stunden beobachtete er an Infusen der frischen Drüse, denen noch Fibrin beigegeben wurde, das Verschwinden der Biuretreaktion.

Ich konnte dieses Resultat Kutschers bestätigen:²⁾ wenn ich auch nicht immer ein Verschwinden der Biuretreaktion bei Pankreasverdauungen finden konnte, so doch in manchen Fällen, in denen man die Reaktion nach Kühne erwartet hätte und besonders (in einem Nachtrag zu meiner Arbeit) bei einer Fibrinverdauung mit frischem Pankreas-Infus, das Fibrin bis auf eine verschwindende Trübung löste, welche Lösung nach wenigen Tagen der Digestion bei 40° C. keine Biuretreaktion mehr gab.

Es wird niemand befremden, daß mich diese Entdeckung Kutschers und meine Bestätigung derselben gegenüber den Resultaten des besten Pankreaskenners, Kühne, nicht wenig erstaunte, und ich suchte schon damals Erklärungen für diese Differenz. Nachdem die Annahme etwa ausgeschiedenen Antialbumids durch den oben erwähnten Versuch hinfällig geworden war, blieb aber die andere von mir gemachte Annahme noch bestehen, daß nämlich unter Umständen sich das inzwischen von Cohnheim entdeckte Erepsin in der Pankreasdrüse finden

¹⁾ Die Endprodukte der Trypsinverdauung, Habilitationsschrift, Straßburg. Trübner 1899 und: Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch. zu Berlin. Bd. XXXIII. 3. S. 3457.

²⁾ Diese Zeitschrift. Bd. XXXVIII. S. 428.

könnte, das manchmal diese weitgehende Spaltung zuwege brächte, und wir hätten dann schon einen jener oben erwähnten Fälle auffällender Verschiedenheit der Pankreaswirkung auf eine greifbare Ursache zurückgeführt.

Das von mir als Hypothese ausgesprochene Vorkommen von Erepsin im Pankreas hat Vernon¹⁾ beweisen zu können geglaubt; ich muß aber gegen seine Untersuchungen und seine Argumentation wesentliche Bedenken erheben.

Wenn einmal nachgewiesen werden kann, daß im Pankreas-extrakte Erepsin enthalten sein kann, so bleibt die Frage zu diskutieren, welcher Art nun das spezifische Enzym des Pankreas sei, ob es das Trypsin Kühnes ist, oder ob dieses nicht einen Teil seiner Wirkung an das Erepsin abzutreten habe; denn man kann sich vorstellen, daß ein Eiweiß nur lösendes oder nur zu Peptonen verwandelndes Enzym, sagen wir ein in alkalischer Lösung wirkendes Pepsin, vorhanden wäre und neben diesem Erepsin. Eine solche Enzymmischung wäre vollkommen geeignet, zu den Kutscherschen Resultaten zu führen. Da aber Kühnes Extrakte nur einen Teil des Peptons zerlegten, so konnte darin kein Erepsin sein und sie konnten also nicht die oben angenommene Mischung enthalten, sondern tatsächlich ein Enzym von den Eigenschaften des Kühneschen Trypsins, dessen weitere Zerlegung immer noch möglich bleibt. Eine Mischung von Kühnes Trypsin mit Erepsin würde natürlich ebenfalls die von Kutscher gefundene Wirkung haben.

Vernon bestimmt die Menge des Peptons in seinen Verdauungsproben durch die kolorimetrische Vergleichung der Biuretreaktion mit der einer Standardlösung. Er gibt zu, daß diese Methode nicht sehr genau sei, aber hinreichend für die vorliegenden Zwecke, und er hat bei Verdauungen mit Erepsin Resultate erzielt, die mit den theoretisch zu erwartenden hinlänglich übereinstimmten; aber immer konnte er die Methode nur bis zu 50% der Peptonzerstörung anwenden, da später die Farbendifferenz zu groß wurde. Vernon bedient sich zu

¹⁾ Journal of Physiol., vol. XXX, p. 330.

seinen Versuchen meist einer Lösung des Witteschen Albumosegemisches; dies geht natürlich bei der Verdauung, wenigstens teilweise, in Pepton über. Nun ist es bekannt, daß die Nuance der Biuretreaktion bei Albumosen und Peptonen verschieden ist. Bei der Wirkung von Darmextrakten, behauptet Vernon, sei der Unterschied in der Nuance meist gering, gibt ihn dagegen für pankreatische Verdauungen zu; er meint zwar, dieser Unterschied beeinflusse wenig die Genauigkeit der Bestimmung, wenigstens zu Anfang der Peptonzerstörung bis zu 50⁰/₀. Kühne¹⁾ hat diese Verschiedenheiten der Nuance genau untersucht und auch den Einfluß der ursprünglichen Gelbfärbung der Lösung auf die Biuretreaktion in Betracht gezogen. Er hat namentlich gefunden, daß bei Albumoselösungen bei Zusatz von mehr Kupferlösung die Biuretfarbe viel rascher zu bläulicher Nuance übergeht als bei Peptonlösungen, daß aber in einer ursprünglich gelb gefärbten Albumoselösung die Biuretfarbe länger zu Rot neigt. Da nun bei Pankreasverdauungen leicht gelbe bis braune Färbung auftritt und außerdem Reduktionserscheinungen vorkommen, so glaube ich doch in die Brauchbarkeit der Vernonschen Methode einigen Zweifel setzen zu sollen.

Nehmen wir aber auch an, sie liefere für den Anfang der Peptonzersetzung hinreichend genaue Resultate, so sind gegen die von Vernon damit gewonnenen wichtige Einwände zu machen.

Vernon fand, daß bei der Pankreasverdauung die Fibrinlösung und die Peptonspaltung nicht parallel gehen. Er beschreibt einen Versuch mit einem Glycerinextrakt aus Schafspankreas, das er mit $\frac{1}{3}$ Wasser mischte, wobei, nach ihm, das Trypsinzymogen mäßig rasch in Trypsin übergeht. Dieses Extrakt prüfte er zu immer späteren Zeiten, bis zu 22 Tagen, und fand, daß in dem Maße, als Zymogen gespalten wird, Fibrin rascher gelöst wird. Auch eine Steigerung der peptonspaltenden Wirkung ist zu konstatieren, aber nicht in gleichem Maße wie die Lösung des Fibrins, sie ist dieser nicht proportional; auch bezieht sich diese Steigerung nur auf die Anfänge der Peptonzerstörung, während die Zerstörung von 40⁰/₀ gleich blieb

¹⁾ Zeitschrift für Biologie, N. F., Bd. XI, S. 316 ff.

und die von 50% gegen früher angestellte Proben verlangsamt war.

Vernon stellt sofort, nachdem er dies komplizierte Resultat geschildert hat, eine Reihe von Hypothesen auf, die es erklären sollen: das Pankreas enthalte zwei Fermente, Trypsin und pankreatisches Erepsin (von dem er später nachzuweisen versucht, daß es von Darmerepsin verschieden sei), von denen nur das erstere ein lösliches Zymogen habe. Das Trypsin unterstütze zunächst das Erepsin in der Peptonspaltung, dann aber zerstöre es das Erepsin, ferner wirke (was auch später nachzuweisen versucht wird) das Trypsin mehr auf die ersten Anteile des Peptons, das Erepsin gleichmäßiger auf alle.

Für die Spaltung der ersten 20% des Peptons gestaltet sich die Sache nach Vernon folgendermaßen: ¹⁾

Tage	Tryptische Wirkung	Peptonspaltende Wirkung
0	13.9	17
2	38.1	27
6	71.5	38
23	95.4	14

An der peptonspaltenden Wirkung sollen nach der Ansicht, zu der Vernon später kommt (S. 344), im Anfang Trypsin und Erepsin ungefähr gleich beteiligt sein. Nun müßte aber das Trypsin allein, wenn soviel vorhanden ist, wie in den späteren Tagen in Vernons Tabelle, viel mehr Pepton spalten, als aus der Tabelle — selbst als Gesamtspaltung — zu ersehen ist, wieviel mehr, wenn ihm davon nur die Hälfte der Spaltung zukommt! Die Peptonspaltung müßte größer sein, weil es sich hier um die Spaltung der ersten Anteile handelt, wo das Trypsin nach Vernon gut wirksam ist und auch von einer Schwächung dieses Enzyms noch nicht die Rede sein kann.

Eines muß also falsch sein, entweder die Beobachtung Vernons oder seine Schlußfolgerung. Aus diesem Versuch wäre viel eher auf den oben zuerst gedachten Fall zu schließen, daß es im Pankreas ein Enzym gäbe, das nur lösend respektive

¹⁾ In bezug auf die numerischen Ausdrücke für die tryptische und peptonspaltende Wirkung des Pankreas s. Vernons Arbeiten, Journal of Physiology, vol. XXVI, p. 405, und vol. XXX, p. 330.

peptonisierend auf Eiweißkörper wirke, das aber an der Peptonspaltung nicht beteiligt sei.

Da aber nach Vernon Trypsin die Spaltung, namentlich der ersten Peptonanteile, mit verursacht, so benutzte er einen Versuch, bei dem diese Wirkung nahezu ausgeschaltet war, um diejenige des Pankreaserepsins zu demonstrieren. Er verfügte nämlich über ein Katzenpankreas, das wenigstens am Anfang kaum fibrinlösend wirkte, so daß man seine, allerdings nicht sehr große, peptonspaltende Wirkung auf Erepsin hätte beziehen können, wenn er bei diesem Versuch nicht unverständlicherweise Darmsaft zugesetzt hätte, dessen Kinase nicht nur etwa vorhandenes Trypsin-Zymogen spalten konnte, sondern wodurch voraussichtlich auch Erepsin zugefügt wurde, dessen Anwesenheit im Pankreas er beweisen wollte. Vernon zeigte zwar, daß durch diesen Zusatz von Darmextrakt die ersten Anteile des Peptons nicht rascher gespalten wurden als ohne denselben, aber die späteren Anteile wurden viel schneller gespalten nach Zusatz des Darmextraktes. Dies konnte nicht durch Entstehung von Pankreaserepsin bedingt sein, das nach Vernon kein lösliches Zymogen besitzt und in dem Versuch ohne Darmsaft ebenso hätte wirken müssen, aber auch nicht dem in der Zwischenzeit entstandenen Trypsin zugeschrieben werden, wenn dies die späteren Peptonanteile weniger zerstört, sondern mußte doch wohl durch das zugesetzte Darmerepsin bedingt sein. Der Versuch ist so kompliziert, daß seine auf den ersten Anblick vorhandene Beweiskraft wesentlich abgeschwächt wird. Die Versuche, die Vernon anführt, um zu beweisen, daß das Pankreaserepsin die letzten Anteile des Peptons rascher verdaue als Trypsin, sind, weil es sich hier um spätere Stadien der Peptonverdauung handelt, wenig beweisend, da für diese Stadien, wie er selbst angibt, seine Methode unsicher wird und er auch selbst anführt, daß sich dabei Störungen durch angehäuften Verdauungsprodukte bemerklich machen können.

Für die Veränderung der Extrakte beim längeren Stehen gilt der gleiche Einwand wie oben, daß das Trypsin viel mehr Pepton hätte spalten müssen, und bei der Verwendung von

einmal Glycerin, das andere Mal verdünntem Alkohol kann der Unterschied durch die Lösungsmittel bedingt sein.

Auf Anhäufung von Verdauungsprodukten können auch die Unterschiede in fibrinlösender und peptonspaltender Kraft bei längerer Digestion in der Wärme beruhen, und so lassen sich bei allen Versuchen Vernons Einwände machen: es würde zu weit führen, dies alles im einzelnen durchzugehen; ich will deshalb nur noch eine Versuchsreihe besprechen, die mir beim ersten Lesen den Eindruck machte, als ob sie sehr zugunsten der Anschauung Vernons spräche. Vernon bekommt bei Zusatz von mehr und mehr Alkohol zu Pankreasextrakten gleich zu besprechende Fällungen: die Filtrate davon wurden aber bei mehr Alkoholzusatz immer relativ reicher an Trypsin d. h. an fibrinlösender Kraft. Allerdings verstehe ich nicht, wie er diese starken alkoholischen Lösungen (es waren zuletzt 2 Volumen Alkohol zu 1 Volumen Extrakt gesetzt) noch zu Verdauungsversuchen anwenden konnte, es sei denn, daß er sie bei niedriger Temperatur eindampfte und wieder in Wasser löste, wovon er aber nichts sagt. Die Niederschläge enthielten nach seiner Auffassung anfangs wenig Trypsin aber verhältnismäßig mehr Erepsin, bei Anwendung von mehr Alkohol enthielten sie dagegen reichliche Mengen Trypsin, und zwar auch relativ zu Erepsin. Auch hier liegen wieder so komplizierte Verhältnisse vor, daß Vernon zu der Hilshypothese greifen muß, daß Erepsin durch Alkohol leichter zerstört werde als Trypsin. Vernon nimmt an, daß die Filtrate mit dem andert- und zweifachen Volumen Alkohol nur Trypsin enthielten. Auch hier verstehe ich nicht, wie er sagen kann, die Fibrinverdauungen seien immer in der Gegenwart von 0,67 cem Alkohol gemacht worden, da diese Filtrate doch viel mehr Alkohol enthalten mußten, wenn er nicht etwa aus diesen Filtraten die Enzyme in irgend einer Weise ausfällte und wieder in einer nur 0,67 cem (auf die ursprüngliche Flüssigkeitsmasse des Extraktes?) Alkohol enthaltenden Lösung löste. Jedenfalls vergleicht er die Wirkung dieser Alkoholfiltrate mit dem soviel Alkohol enthaltenden ursprünglichen Extrakte. Nimmt man nun an, daß in dem Filtrate, das 2 Volumen Alkohol enthielt,

(oder dem daraus dargestellten und wieder gelösten Enzym) wirklich nur Trypsin war, so stellt sich für dieses die fibrinlösende zur peptonspaltenden Kraft nach Vernons Tabelle wie 10,9 : 1,6: dann käme einem frischen, in bezug auf den Alkoholgehalt gleichen Extrakte, dessen fibrinlösende Wirkung sich zu dem eben erwähnten Filtrat nach Vernon wie 87,7 : 10,9 stellt, eine Trypsinwirkung von 12,9 zu und wenn man, ebenfalls mit Vernon, dazu das Gleiche an Erepsinwirkung rechnet, käme einem solchen frischen Extrakte eine peptonspaltende Kraft von 25,8 zu. In der Tat zeigt aber die Tabelle, daß das Verhältnis seiner fibrinlösenden zur peptonspaltenden Kraft 87,7 : 69 ist. Dann war aber in den Alkoholfiltraten das Trypsin verändert und die Frage ist berechtigt, ob es sich nicht hier überhaupt um die Veränderung eines Enzyms statt um die Trennung von zweien handelt.

Im ganzen hat Vernon aus der Verschiebung der Wirkung der ersten Stadien der Peptonspaltung auf ein Pankreaserepsin schließen zu dürfen geglaubt, was doch höchstens gestattet ist, wenn man die Eigenschaft dieses Enzyms, Peptone ganz zu zerlegen, vollständig oder wenigstens nahezu vollständig vor Augen hat. Vernon¹⁾ hat selbst zugegeben, daß man seine Resultate der Peptonspaltung nur in gewissen Fällen und bei geeigneten Vorsichtsmaßregeln verwerten könne, und man wird diesen zeitlichen Verschiebungen nicht allzu großen Wert beilegen, wenn man z. B. aus der Arbeit von Pawlow und Parastschuk²⁾ ersieht, wie geringe Nebenumstände, wie der Zusatz von Salzen oder die Verdünnung, die Gesetze einer Enzymwirkung verändern können.

Es handelt sich dort um die milchgerinnende Eigenschaft des Magensaftes, und wenn ich auch der Identitätslehre von Pepsin und Chymosin dieser Forscher nicht unbedingt beitreten kann, so bleiben doch ihre diesbezüglichen Beobachtungen zu Recht bestehen.

¹⁾ l. c. S. 340.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLII. S. 415.

Eigene Untersuchungen.

Um die Frage nach dem Vorhandensein von Erepsin oder einem diesem ähnlichen Enzym in Pankreas zu beantworten, mußte man bestrebt sein, seine Wirkung gesondert in Erscheinung treten zu lassen, sei es, daß man es selbst isolierte oder daß man das Trypsin auf irgend eine Art entfernte oder unwirksam machte. Wenn dies nicht gelang, blieb noch die Ausschaltung des Erepsins übrig, wobei eine reinere Trypsinwirkung zu erkennen denkbar war.

Die Methoden der Untersuchung der tryptischen und ereptischen Wirkung sind sehr einfach, erstere wird an der Lösung von Eiweißkörpern, letztere an dem Verschwinden der Biuretreaktion erkannt. Letztere wurde immer, wenn nichts Besonderes erwähnt ist, nach Auskoagulieren der zu untersuchenden Lösungen durch Kochen unter Zusatz von konzentrierter Kochsalzlösung und wenig Essigsäure gemacht, wie dies Cohnheim empfiehlt. Da man so in geeigneten Fällen biuretfreie Filtrate erhält, hat sich die Methode bewährt. Bei der Biuretreaktion wurde immer reichlich Natronlauge zugesetzt und dann tropfenweise eine 1%ige Kupfersulfatlösung. Dabei können recht geringe Peptonmengen erkannt werden. Schon der erste Tropfen gibt meist eine deutliche rötliche Färbung, die aber öfter beim Umschütteln abblaßt.

Es ist dies aber kein Zeichen von Anwesenheit von wenig Pepton: denn auch wenn dieses reichlich vorhanden ist, können die ersten Tropfen ablassen und erst später recht intensive Biuretfarbe auftreten. Ist aber wenig Pepton vorhanden, so geht die Farbe mehr oder weniger bald zu bläulichem Purpur und dann zu immer reinerem Blau über; daneben tritt häufig eine schmutzige Farbe auf. Manchmal wird aber auch ziemlich viel Kupferlösung wieder entfärbt, so daß man an eine Reduktionserscheinung denken muß, was ja bei dem bekannten Auftreten reduzierender Körper bei der Pankreasverdauung nicht unerwartet ist. Diese Reduktion hindert aber die Erkennung auch von wenig Pepton nicht: denn wenn man zu Gemischen, die diese Eigenschaft zeigen, auch nur wenig Pepton

zusetzt, bleibt die Biuretfarbe bestehen, so daß man annehmen muß, daß das Pepton das Kupfer in Beschlag nimmt und vor der Reduktion schützt.

Die Farbe der Biuretreaktion habe ich selten rein rot gefunden. Sie neigt mehr zum Roten, wenn die Lösung, mit der sie angestellt wird, gelb gefärbt ist. Ich verweise hier nochmals auf Kühnes Angaben. Bei wenig oder nicht gefärbten Lösungen, mit denen ich häufig arbeiten konnte, ist die Biuretfarbe aber schön purpurrot.

Zur Feststellung der creptischen Wirkung wurden folgende Körper als Reagenzien benutzt:

1. Die Eiweißkörper des Pankreas selbst (Autodigestion).
2. Rohes Fibrin.
3. Koaguliertes Eiereiweiß.
4. Verschiedene Peptone:

a) Von Herrn Prof. Cohnheim wurde mir ein Teil seiner in seiner Arbeit über Eiweißresorption (Versuche an Oktopoden) angeführten Peptonlösung¹⁾ zur Verfügung gestellt, die er durch 8tägige Pepsinverdauung aus Plasmon (Casein) gewonnen hatte.

b) Eine 10%ige Wittesche Albumoselösung, die mit Pepsin verdaut war. Letzteres war ein nicht gerade sehr wirksames Präparat. Die Lösung gab nach 1 Monat Digestion mit Ammonsulfat noch einen, allerdings nicht sehr bedeutenden, nach einiger Zeit an der Wand klebenden Niederschlag. Das Gemisch wurde neutralisiert und gekocht. Da hier immer noch Albumosen vorhanden waren, wurde

c) ein Teil dieser Lösung alkalisch gemacht und mit etwas Pankreasextrakt digeriert. Nach 2 Tagen gab eine gekochte und mit Essigsäure angesäuerte Probe bei Sättigung mit Ammonsulfat nur eine ganz geringe, nicht klebende Trübung. Die Biuretreaktion war noch sehr gut. Eine 10fach verdünnte Probe verglichen mit einer ebenso verdünnten 10%igen Lösung von unverdauter Witteschen Albumose gab bei Zusatz von wenig Kupferlösung ungefähr die gleiche Nuance, ging aber bei Zusatz von mehr leichter zu violett über. Auch dies Gemisch wurde neutralisiert und gekocht.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXV, S. 410.

d) v. Wittich¹⁾ hat gezeigt, daß Fibrin sehr energisch Pepsin absorbiert. Des gleichen Verfahrens hat sich Stadelmann²⁾ bedient, um die Enzyme des Harns zu gewinnen.

Dieses Prinzip habe ich bei dem folgenden Präparat angewandt. Es wurden 50 g mit der Hand gepreßtes gekochtes Fibrin in 100 ccm eines 14 Tage alten Pankreasinfuses suspendiert und eine Stunde in der Kälte darin gelassen. Dann wurde das Infus abgegossen, das Fibrin in Wasser suspendiert und umgeschwenkt und das Wasser abgegossen. Das Fibrin wurde jetzt mit der Hand gepreßt und in 200 ccm mit Ammoniak deutlich alkalisch gemachtem Wasser suspendiert. Bei 40° C. war am andern Tag noch nicht alles Fibrin gelöst. Am folgenden Tag waren keine Fibrinreste mehr übrig, wohl aber war die ganze Masse trüb und schon etwas Tyrosin ausgeschieden. Nun wurde filtriert. Das Filtrat stellte nach einer Trockenbestimmung eine ca. 6%ige Lösung dar: die feste Substanz konnte abgesehen von der Fibrinasche nichts Anorganisches enthalten. Die Lösung wurde noch 2 Tage bei 40° C. digeriert, dann kalt gestellt. Dabei schied sich reichlich Tyrosin aus. Davon wurde abfiltriert, schwach angesäuert und gekocht, wobei nur eine Spur Trübung eintrat. Das Filtrat gab, auch mit Essigsäure etwas mehr angesäuert, mit Ammonsulfat gesättigt nur ganz geringe Trübung. Auf das 20fache verdünnt gab es mit Natronlauge und wenig Kupfersulfat eine schön purpurne Lösung, die allerdings bei Zusatz von mehr Kupfersalz bald zu violett neigte.

e) Ein mir von Herrn Professor Kossel zur Verfügung gestelltes Protonpräparat, nämlich Sturonsulfat.

Zur Feststellung der tryptischen Wirkung habe ich mich wieder der einfachen Fibrinprobe bedient. Man verwendet heute vielfach die Mettsche Methode, weil sie eine genaue Ablesung des gelösten Eiweißes oder der Gelatine gestattet. Sie hat aber auch manche Nachteile: sie ist umständlich und erfordert längere Zeit, was bei dem zweifellosen von Vernon beschriebenen Schwächerwerden der tryptischen Wirkung mit der Zeit,

¹⁾ Pflügers Archiv, Bd. V, 1872, S. 435 (S. 442, 443).

²⁾ Zeitschrift f. Biologie, Bd. XXV, S. 208, 1889.

dessen Gesetze wir noch nicht genau kennen, störend ist. Außerdem sind auch gegen das Prinzip der Methode Einwände zu erheben. In dem fast kapillaren Raume wird es leicht zu Stauung der Verdauungsprodukte kommen, die die Diffusion des wirksamen Prinzips zu der zu lösenden Substanz erschweren. In ähnlicher Weise hat kürzlich M. E. Zunz¹⁾ diese Methode kritisiert, ebenso W. Sawjalow.²⁾

Dagegen sind die Versuche mit Fibrin sehr rasch angestellt und eine leicht zu machende Skala, wie ich es früher getan habe,³⁾ ermöglicht, auch quantitative Verschiedenheiten festzustellen. Gegen die Verwendung von Fibrin wäre vielleicht seine außerordentlich leichte Löslichkeit in Trypsinlösungen anzuführen. Hammarsten⁴⁾ sagt: «Ungekochtes Fibrin wird im Verhältnis zu den meisten anderen Eiweißstoffen so außerordentlich rasch gelöst, daß die Verdauungsversuche mit rohem Fibrin fast eine unrichtige Vorstellung von der Fähigkeit des Trypsins, geronnene Eiweißkörper im allgemeinen zu lösen, geben», und Kühne⁵⁾ bemerkt darüber: «Wo Fibrinflocken fast momentan zergehen, kann die Enzymmenge noch ganz ungenügend sein, um merkliche Peptonspuren zu erzeugen, und man hat sich deshalb sehr davor zu hüten, aus rascher Auflösung gleich auf die Vollkommenheit einer Verdauung zu schließen, da die letztere nur durch das Schwinden der nächsten digestiven Spaltungsprodukte, also aus der Umwandlung der Albumosen in Peptone zu ermessen ist. Es ist nun aber eine besondere Frage, worauf die Verschiedenheit in der Fibrinlösung und der Peptonbildung beruht, jedenfalls kann man aber doch nach der großen Verschiedenheit, mit der auch die Auflösung des Fibrins vor sich geht, auf eine quantitativ verschiedene Wirkung der fibrinlösenden Kraft des Pankreas schließen.

¹⁾ Société royale des sc. méd. et nat. de Bruxelles, Bull. de la séance de Janvier 1906, 64^e année, n^o 1.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLVI, S. 307.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVIII, S. 434, 435.

⁴⁾ Lehrbuch d. physiol. Chemie, Wiesbaden 1899, S. 293.

⁵⁾ Zeitschrift f. Biologie, Bd. XXII, S. 448, 449.

Bei etwas länger dauernden Versuchen könnte man zweifeln, ob nicht das Fibrin durch die alkalischen und salzhaltigen Flüssigkeiten zur Lösung gebracht würde. Ich glaube zwar nicht, daß sich Fibrin an und für sich in solchen löst, sondern daß daran immer Enzymspuren schuld sind. Ich habe häufig Kontrollproben mit gekochten Lösungen gemacht und dabei bei frischem Fibrin im Laufe einiger Tage nie Lösung eintreten sehen. Wendet man älteres Fibrin an, so ist Vorsicht geboten. Zu kurz dauernden Versuchen und Vergleichen ist solches wohl auch noch verwendbar, aber man kann in bezug auf die absolute Löslichkeit von Fibrin durch Trypsin getäuscht werden: denn solches Fibrin wird häufig, wie man sieht, wenn man es mit frischem vergleicht, leichter löslich für Trypsin. Ich habe aber solches Fibrin, das von einer Trypsinlösung in 2 Minuten bei 40° C. fast vollkommen gelöst wurde in einer alkalischen Kochsalzlösung, die außerdem noch Pepton enthielt, 24 Stunden bei Zimmertemperatur und nochmals 24 Stunden bei 40° C. stehen gelassen, ohne die geringste Veränderung daran zu sehen. Nach 3 weiteren Tagen zeigte es allerdings Zerfall. Es ist weiter ein Unterschied zwischen verschiedenen Fibrinarten. Wenn man Schweinefibrin unter toluolisiertem Wasser aufbewahrt, löst es sich im Verlauf einiger Wochen ganz auf. Anders verhält sich Rindsfibrin. Ich habe solches monatelang unter Wasser gehalten, ohne eine Veränderung daran zu sehen: allerdings zeigte es sich bei der Herausnahme etwas brüchig und war auffallend leicht in Trypsinlösung löslich: nach noch längerem Aufbewahren zerging auch dieses Fibrin endlich ganz. Ich glaube aber doch, für diese Lösung geringe Enzymmengen verantwortlich machen zu sollen. Schweinefibrin scheint solche etwas reichlicher zu enthalten als Rindsfibrin. Bei der außerordentlich langsamen Lösung des letzteren ist nicht ausgeschlossen, daß minimale Enzymmengen auf irgend eine Art von außen hineingekommen waren. Ich habe deshalb frisches, gut gewaschenes Rindsfibrin einmal mit Wasser und einmal mit alkalischer Kochsalzlösung und Toluol in Glaskölbchen gebracht und diese zugeschmolzen. Auf diese Weise schützt das Toluol sicher vor fäulniserregenden Organismen, während Enzyme wirksam bleiben. Länge Zeit

war an beiden Proben auch beim Schütteln kaum irgend welcher Zerfall des Fibrins zu bemerken: nach 3 Monaten verhielt sich das in Wasser suspendierte Fibrin noch ebenso, das in der alkalischen Kochsalzlösung jedoch zerging beim Schütteln zu einer milchigen Lösung. Dieses anfängliche Intaktbleiben und dann Inlösungsgehen des Fibrins dürfte kaum ein Analogon in einer rein physikalisch-chemischen Lösung haben. Daß aber Fibrin durch Enzym, ehe es sich tatsächlich löst, leichter löslich gemacht wird, wissen wir aus einer alten Angabe Kühnes,¹⁾ der gezeigt hat, daß bei unvollendeter Pankreasverdauung das noch ungelöste Fibrin sich leicht in verdünnter Salzsäure und teilweise auch in 10^o iger Kochsalzlösung löst. Daß Fibrin in Wasser sich so langsam löst, ist kein Wunder, da dies ein schlechtes Lösungsmittel für die Eiweißkörper ist, die man als aus dem Fibrin entstehend erwarten kann. In reinem Wasser wird das Fibrin überhaupt nicht gelöst werden, sondern nur durch die aus ihm allmählich extrahierten Salze. Daß es sich um enzymatische Wirkungen handelt, glaube ich auch aus den Lösungsprodukten schließen zu sollen, worauf ich später zurückkommen werde.

Diese Lösungserscheinungen kommen aber in der Zeit, die für unsere Versuche nötig ist, nicht in Betracht.

Rindspankreas.

FrISCHE und alte Extrakte.

Nach Vernon wird Erepsin von Trypsin zerstört: da ich aber seine Versuche nicht als einwandfrei ansehen kann, war dies nachzuuntersuchen. Bestätigt gefunden habe ich dagegen seine Angabe, daß das Trypsin mit der Zeit und namentlich bei 40^o C. viel von seiner ursprünglichen Wirksamkeit verliert. So war es denkbar, daß nach langer Zeit vielleicht die eine oder andere Wirkung, wenn auch vermindert, doch allein vorhanden war. Um aber zu sehen, wie weit die eine oder die andere Kraft geschwächt war, waren Vergleiche mit frischen Pankreasextrakten anzustellen.

¹⁾ Virchows Archiv, Bd. XXXIX, 1867.

Versuch 1.¹⁾

493 g R. P., wie es vom Schlachthause kam, wurden mit der Fleischhackmaschine zerkleinert und mit 1 l Wasser und Toluol angesetzt. Am folgenden Tage wurde eine Probe filtriert. Das Filtrat ist trüb.²⁾ Beim Auskoagulieren einer Probe entsteht ein starkes Koagulum: das davon abfiltrierte klare Filtrat gibt intensive B. R.: es wirkt auf Fibrin:

3 Min.: bg. Z.: 5 Min.: mäß. R.: 10 Min.: min. R.³⁾

Am 7. Tage nach dem Ansetzen wurde das ganze P. E. filtriert und dann folgende Versuche gemacht:

a) Am 8. Tage wurde eine, jetzt klar filtrierte Probe des Extraktes selbst in den Wärmeschrank gestellt. Am folgenden Tag war nach Koagulation keine Biuretreaktion mehr zu erkennen; es entstand bei Zusatz des Kupfersalzes nur eine grünlich schwärzliche Färbung.

b) An dem gleichen Tage, wie das Extrakt allein, wurde eine andere Probe des Extraktes mit Pepton c angesetzt und warm gestellt. Am folgenden Tage war noch B. R. im auskoagulierten Extrakte vorhanden, aber zweifellos geringer.

Nachdem dies Gemisch 4 Tage bei Zimmertemperatur und dann nochmals über Nacht bei 40° C. gestanden hatte, war die B. R. bis auf geringe, zweifelhafte Reste verschwunden.

c) Weiter wurden schon am folgenden Tage nach der Bereitung des Extraktes 45 ccm filtriert und mit 5 g. mit der Hand gepresstem, frischem Fibrin in den Wärmeschrank gestellt. Nach 3 Tagen entstand in einer Probe nur ein geringes Koagulum: im Filtrat war die B. R. noch vorhanden, aber sie war auffallend blaß und neigte bald zu bläulichem Purpur. Das Gemisch blieb weitere 15 Tage teils bei 40° C., teils bei Zimmertemperatur stehen. Die letzten Reste der B. R. verschwanden nicht, aber zuletzt gab dasselbe nur eine leicht rötliche Nuance, so daß man die Reaktion in Anbetracht des reichlich angewandten Fibrins sehr gering nennen konnte.

Der Versuch zeigt, daß bei einem gut fibrinlösend wirkenden Pankreas die peptonspaltende Wirkung jedenfalls nicht sehr bald verschwindet, da es noch am 8. Tage nach dem Ansetzen zugesetztes Pepton nahezu vollständig zerstört. Bemerkenswert ist, daß das Pankreas auf das Pepton allmählich

¹⁾ In den folgenden Versuchen ist Rinderpankreasextrakt mit R. P. E. abgekürzt, Biuretreaktion mit B. R.

²⁾ Die anfängliche Trübung der P. E.-Filtrate rührt zumeist von fein emulgiertem Toluol her: später pflegen die Extrakte klar zu filtrieren.

³⁾ Wie in meiner früheren Arbeit (Diese Zeitschrift, Bd. XXXVIII, S. 434) bedeutet: ? = fragliche Wirkung; Sp. Z. = Spuren von Zerfall; bg. Z., deutl. Z., st. Z. = beginnender, deutlicher, starker Zerfall; mäß. R., kl. R., ger. R., min. R. = mäßige, kleine, geringe, minimale Reste.

einwirkt, da am Tage nach dem Warmstellen die Biuretreaktion noch deutlich, wenn auch geringer war und erst nach weiteren 4 Tagen bis auf zweifelhafte Reste verschwand.

Auch Fibrin oder das daraus entstandene Pepton wurde von dem frischen Pankreasextrakt bis auf geringe biuretgebende Reste zerlegt.

Versuch 2.

Angesetzt 180 g R. P. mit 350 ccm Wasser, Toluol. Am folgenden Tage gibt eine filtrierte Probe beim Kochen starkes Koagulum, das Filtrat davon starke B. R. Bei Sättigung mit Ammonsulfat entsteht in diesem Filtrat nur eine geringe, flockige, nicht klebende Trübung. Die B. R. ist also vorwiegend auf wirkliches Pepton zu beziehen. Das Extrakt wirkte auf rohes Fibrin:

3 Min.: st. Z.; 5 Min.: kl. R.; 12 Min.: gelöst.

a) An diesem Tage wurde eine Probe des Extraktes warm gestellt. Am folgenden Tage gab dieselbe beim Koagulieren nur ein mäßiges flockiges Koagulum und die B. R. war recht schwach. Noch bei 6 Tropfen Kupfersulfatlösung war die Färbung recht blaß und schon sehr zu Blau neigend, bei 10 Tropfen rein Blau. Nachdem die Probe wieder bis zum folgenden Tag bei 40° C. gestanden hatte, war die B. R. etwas deutlicher. Dies ist wohl daraus zu erklären, daß jetzt noch etwas Eiweiß (da die Probe tags zuvor ja noch ein, wenn auch nicht sehr starkes Koagulum gegeben hatte) in unkoagulable Körper verwandelt worden war. Der Rest der Probe war dann noch 10 Tage im Wärmeschrank gestanden. Jetzt gab dieselbe beim Koagulieren nur noch ein ganz geringes Koagulum und die B. R. fiel sehr zweifelhaft aus. Hier war aber die oben erwähnte Reduktionserscheinung sehr auffallend; denn der Zusatz des Kupfersalzes bewirkte auch keine blaue Färbung. Nur bei ganz wenig Kupferzusatz war eine schwache rötliche Nuance bemerkbar, die wieder verschwand; bei 10 Tropfen wurde die Lösung nur etwas gelber und zugleich schwärzlich; bei 20 Tropfen grünlich-schwärzlich, bei 30 Tropfen blaugrünlich-schwärzlich. Setzte man aber nur wenige Tropfen einer Peptonlösung zu (Pepton b.), so war die rötliche Nuance bei der B. R. viel deutlicher. Nachdem der nun noch bleibende Rest noch 16 Tage im Wärmeschrank gestanden hatte, waren diese letzten Spuren von Pepton noch immer zu erkennen, dabei wirkte es noch tryptisch, indem es sogar gekochtes Fibrin in 5 Stunden noch zu ziemlichem Zerfall brachte.

b) An dem letzten Tage, an dem das warm gestandene Extrakt untersucht wurde, wurde auch eine Probe des bisher bei Zimmertemperatur gehaltenen Extraktes geprüft. Wenn in jenem noch geringe Spuren von B. R. zu konstatieren waren, so fiel dieselbe hier vollständig negativ aus, so daß es den Eindruck machte, als ob das Extrakt bei Zimmertemperatur besser wirke als bei 40° C., weshalb

spätere Versuche bei jener angestellt wurden. Auch bei dieser Probe auf Pepton war die Reduktionserscheinung zu konstatieren.

c) Am 2. Tage, nachdem das Extrakt bereitet worden war, war eine Probe filtriert und mit Fibrin warm gestellt worden. Am folgenden Tage fand sich eine reichliche Tyrosinausscheidung darin. Das Filtrat davon gab beim Koagulieren nur ein geringes, flockiges Koagulum und das Filtrat davon starke B. R.; bei Sättigung mit Ammonsulfat aber nur sehr geringe Trübung.

d) Nachdem das Extrakt einen Monat bei Zimmertemperatur gestanden hatte, wo es beim Koagulieren nur noch eine mäßige flockige Fällung gab und im Filtrat davon keine B. R., während es an tryptischer Wirkung wenig eingebüßt hatte (Wirkung auf frisches Fibrin: 5 Min.: deutl. Z.: 10 Min.: mäß. R.), wurde es mit Pepton c versetzt im Verhältnis von 3 : 1 und bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach 27 Tagen wurde untersucht. Nach Koagulation trat bei Zusatz von wenig Kupfersalz bei der B. R. nur noch eine sehr blasse, rötliche Nuance auf, bald war aber neben dem schwärzlichen Tone keine weitere Farbe mehr zu erkennen, während eine Probe des Extraktes, zu der jetzt neues Pepton, aber nur halb so viel als ursprünglich zu der Probe, die digeriert wurde, zugesetzt war, eine deutliche purpurne B. R. gab.

e) Auf Fibrin wirkte das einen Monat alte Extrakt bei Zimmertemperatur nicht bis zur Zerstörung des Peptons ein. Nach 5 Tagen zeigte die B. R. folgende Eigentümlichkeit: Bei Zusatz von wenig Kupferlösung war sie deutlich purpurn, aber sehr blaß, dies änderte sich bei Mehrzusatz lange nicht, und erst bei sehr viel mehr neigte sie zu Lila, war aber immer blaß und etwas schwärzlich. Da die Neigung zu Blau hier erst so spät eintrat, muß doch reichlich Pepton vorhanden gewesen sein, und die Blässe der Reaktion ist nicht sicher maßgebend für wenig Pepton.

Nach weiteren 15 Tagen war die B. R. noch immer recht deutlich.

Auch dieses Extrakt wirkte frisch auf sein eigenes Pepton bei 40° C. und eher noch besser bei Zimmertemperatur, rasch zersetzend. Dabei hat es eine intensiv tryptische Wirkung, indem es Fibrin nicht nur rasch löst, sondern in kurzer Zeit in echtes Pepton verwandelt. Dieser Versuch wurde nicht weiter geführt, weil ich damals nur sehen wollte, ob das Pankreas sehr rasch die Peptone umwandelt, so daß nicht sicher ist, ob die geringe Wirkung des Extraktes auf Fibrin nach einem Monat eine Schwächung bedeutet und deshalb auch nicht entschieden werden kann, ob hier eine Verschiebung der tryptischen und ereptischen Wirkung stattgefunden hat. Sicher aber ist, daß das Extrakt nach einem Monat seine ereptische Wir-

kung nicht verloren hat, da es Pepton noch bei Zimmertemperatur so gut wie vollständig zersetzt.

Wenn sich die ereptische Wirkung so lange hielt, war die Untersuchung noch älterer Extrakte geboten, worüber die nächsten Versuche Aufschluß geben:

Versuch 3.

3260 g R. P. waren im Winter (12. Januar 1904) mit 6500 ccm Wasser und Toluol angesetzt worden. Die Temperatur schwankte um diese Zeit nahe um 0° C., sie stieg aber während der Extraktion auf + 6° C. Der Versuch war angestellt worden, um bei möglichst niedriger Temperatur so viel wie möglich die Selbstverdauung zu verhindern und bald durch Ammonsulfatsättigung ein Trockenpräparat herzustellen, das neben Trypsin wenig Verdauungsprodukte enthielt, sondern nur genuine Eiweißkörper. Aus diesem Präparate war vielleicht durch geeignete Extraktionsmittel ein sehr reines und wirksames Trypsin zu erhalten. Ein solches Präparat wurde auch hergestellt und ich werde darüber noch zu berichten haben. Der Rest dieses R. P. E. wurde aufbewahrt.

In früher Zeit wurden keine Versuche über seine ereptische Wirksamkeit gemacht; nachdem es 13 Monate bei Zimmertemperatur gestanden hatte, wurde

a) eine Probe des Extraktes warm gestellt. Am folgenden Tage fiel die B. R., nachdem beim Koagulieren nur eine Spur Trübung entstanden war, vollständig negativ aus. Es war leider versäumt worden, das P. E. vor dem Warmstellen auf Pepton zu prüfen; 1½ Monate vorher hatte es noch etwas, allerdings geringe B. R. gegeben.

b) Zu gleicher Zeit wie das Extrakt allein war auch eine Probe derselben, nachdem sie mit Bicarbonat schwach alkalisch gemacht worden war, mit Pepton b im Verhältnis von 17 : 3 versetzt und warm gestellt. Schon am folgenden Tage war ein deutlich schwächerer Ausfall der B. R. zu konstatieren und nachdem das Gemisch einen Tag bei Zimmertemperatur und dann über Nacht nochmals bei 40° C. gestanden hatte, war nur noch sehr geringe B. R. vorhanden.

c) Auffällig rasch und vollkommen war die Wirkung dieses alten R. P. E. auf das oben erwähnte Proton. Es wurde nämlich angesetzt mit einer 5%igen Sturionsulfatlösung im Verhältnis von 6 : 1. Dies Gemisch gab eine sehr gute B. R.; nachdem es aber über Nacht im Wärmeschrank gestanden hatte, war bei der B. R. keine Spur einer rötlichen Nuance mehr zu sehen, sondern immer nur reines Blau.

d) Am 9. Mai 1904, also nachdem das P. E. 4 Monate gestanden hatte, wurde eine Probe auf ihre Wirkung auf Fibrin untersucht. Die tryptische Wirkung war zu dieser Zeit noch recht gut. Das Extrakt wirkte, schwach alkalisch gemacht, auf eine Flocke frisches Fibrin:

5 Min.: deutl. Z.; 10 Min.: maf. R.; 15 Min.: kl. R.

Die größere Masse des Fibrins in dem jetzigen Versuch (es waren 70 ccm P. E. mit 20 g mit der Hand geprefstem Fibrin angesetzt) löste sich in einer Stunde bei 40° C. fast vollständig auf. Diese Mischung blieb bis zum Ende des Monats mit Ausnahme von 5 Tagen bei Zimmertemperatur bei 40° stehen. Die B. R. war zu dieser Zeit wohl etwas schwächer, aber doch noch recht stark: die tryptische Wirkung war geschwächt, aber nicht aufgehoben, indem das Gemisch in 1 Stunde und 20 Min. eine Fibrinflocke bis auf mäßige Reste löste. Nachdem das Gemisch noch 36 Tage bei Zimmertemperatur gestanden hatte, war die B. R. noch ebenso stark.

Dieser Versuch zeigt, daß dieses Rinderpankreasextrakt noch nach einem Jahre eine zweifellose ereptische Wirkung hatte. Besonders vollkommen war die Wirkung auf das Proton. Hier ist freilich die Frage, ob dies Proton nicht etwa im Sinne Kühnes ganz der Hemigruppe angehört, so daß seine Zerlegung auch ein Trypsin von Kühnes Eigenschaften zustande gebracht haben würde: denn das Pankreasextrakt wirkte zu dieser Zeit immer noch tryptisch, wenn auch nicht so gut wie im Anfang. Ich stelle hier seine Wirkungen auf Fibrin zusammen:

Am 18. I. 04. wirkte es: 2 Min.: bg. Z.; 5 Min.: kl. R.; 10 Min.: gelöst, fast klar.

Am 6. II. 05.: 20 Min.: bg. Z.; 30 Min.: deutl. Z.; 50 Min.: kl. R.; 60 Min.: gr. R.

Da auch bei diesem Versuch die Fibrinverdauung erst mit dem 4 Monate alten Extrakte angestellt war, kann man auch hier nicht sagen, ob sein geringerer Einfluß auf dasselbe dadurch bedingt war, daß die ereptische Wirkung zu dieser Zeit schon abgenommen hatte, oder ob ein von vornherein in dieser Beziehung weniger wirksames Extrakt vorlag. Allerdings war hier reichlich Fibrin in Verdauung gegeben und infolge dessen auch viel Material zu bewältigen. Daß dies aber auch und zwar in kurzer Zeit von Pankreas geleistet werden kann, zeigen Kutschers Erfahrungen und meine Bestätigung. Man muß aber aus diesem, wie aus dem vorhergehenden Versuch schließen, daß, einerlei wodurch es bedingt ist, Extrakte vorkommen, die bei guter tryptischer Wirkung nicht sehr vollkommen peptonspaltend wirken, wenn ihnen diese Wirkung auch nicht ganz abgeht.

Versuch 4.

R. P. war am 9. Juli 1903 mit Wasser angesetzt worden, nach einigen Tagen auf 35° Magnesiumsulfat gebracht und dann koliert worden. Der Kolierrückstand war mit neuem Wasser, das mit Ammoniak deutlich alkalisch gemacht worden war, übergossen und wirkte damals nach 5 Tagen auf Fibrin: 10 Min.: zieml. Z.: 20 Min.: sehr ger. R.: 25 Min.: min. R. Dieses II. Extrakt blieb so stehen bis zum 13. Dezember 1905. Eine nun filtrierte Probe wurde koaguliert, wobei ein geringes flockiges Koagulum entstand. Das Filtrat davon war fast wasserhell und gab keine B. R. Eine Probe dieses Extraktes brachte erst in einer halben Stunde eine Fibrinflocke zu beginnendem Zerfall, löste sie aber in einigen Stunden ganz auf.

Eine Probe dieses Extraktes, mit Natriumbicarbonat deutlich alkalisch gemacht, wurde mit Pepton d im Verhältnis von 10:2 warm gestellt. Nach 6 Tagen war nach Koagulation noch B. R. vorhanden, sie neigte aber bald zu Lila und war im ganzen blaß. Nach weiteren 20 Tagen fiel die B. R. aber nur noch sehr zweifelhaft aus.

Also nach über zwei Jahren hat ein Pankreasextrakt und zwar ein zweiter Aufguß noch zweifellos ereptisch gewirkt. Seine tryptische Wirkung war nicht aufgehoben, aber ziemlich herabgesetzt. Die ereptische Wirkung war nicht sehr rasch, aber zuletzt doch fast vollkommen. Zu beachten ist, daß in diesem Falle ein Pepton angewandt wurde, das mit Trypsin hergestellt war, das also jedenfalls vorwiegend im Sinne Kühnes als Antipepton zu betrachten war.

Versuche mit Präparatlösungen.

Ich habe früher gezeigt,¹⁾ daß man durch eine der Kühneschen Methoden zur Gewinnung eines reineren Enzyms, nämlich durch Aussalzen der Pankreasextrakte mit verschiedenen Salzen, Präparate erhalten kann, die in ihrer Wirkung in bezug auf Lösung von Fibrin und Erzeugung einer Reihe Zersetzungsprodukte dem ursprünglichen Pankreasextrakte oft nicht nachstehen. Wie sie sich in bezug auf die gänzliche Zersetzung von Pepton verhielten, habe ich damals auch untersucht, die Biuretreaktion aber nicht schwinden gesehen. Wohl fiel sie bei einer Fibrinverdauung nach längerer Zeit «mehr violett» aus (S. 491) und verschwand in einem anderen Falle ganz: dort war allerdings

¹⁾ a. a. O.

Protoalbumose angewandt worden: die nach Pick¹⁾ zu der Hemigruppe gehört, indessen möchte ich darauf kein großes Gewicht legen, da die von mir angewandte Protoalbumose noch nicht in der Pickschen Art gereinigt war und es nach Kühne überhaupt sehr schwer ist, reine Hemikörper zu erhalten, wobei er allerdings die Möglichkeit diskutierte, daß auch sein Hemi-pepton noch einen durch Trypsin nicht spaltbaren Körper enthalte, dem der Name Trypton beizulegen wäre.²⁾ Ich gebe hier einige Versuche, die ich neuerdings mit solchen Präparatlösungen angestellt habe:

Versuch 1.

Am 12. Juni 1903 war R. P. mit Wasser angesetzt worden. Schon am folgenden Tage wirkte eine filtrierte Probe auf frisches Fibrin:

2 Min.: bg. Z.; 3 Min.: st. Z.; 5 Min.: ger. R.; 10 Min.: gelöst.

Nach einigen Tagen wurde das Extrakt auf 35% Magnesiumsulfat gebracht und blieb so stehen. Am 14. Juli 1904 wurde das Extrakt kolert und filtriert. 50 ccm dieses Filtrats wurden mit Natriumsulfat ausgesalzen. Dieser Niederschlag wurde getrocknet und in 50 ccm einer Lösung gelöst, die 2% Kochsalz und 0,2% Soda enthielt.

Diese Lösung gab keine B. R. und wirkte auf Fibrin auffallend gut:

5 Min.: zieml. Z.; 10 Min.: kl. R.; 20 Min.: minimalste R.

Ich muß hier jedoch bemerken, daß ich um diese Zeit ohne mein Wissen einige Male Schweinefibrin geliefert bekam, was ich erst später erfuhr. Vielleicht wurde solches auch in diesem Falle angewandt. Ein später aus dem ganzen P. E. in ähnlicher Weise (nur mit mehr Magnesiumsulfat) dargestelltes Präparat wirkte auf frisches Rinderfibrin bedeutend langsamer:

10 Min.: ?; 20 Min.: zieml. Z.; 50 Min.: kl. R.

Von der obigen Präparatlösung wurden 35 ccm mit 5 g mit der Hand gepreftem (Schweine-?)Fibrin beschickt und warm gestellt. Am folgenden Tag ist das Gemisch eine dünne rahmige Flüssigkeit, die langsam, aber klar filtriert. Da es mir damals nur auf die Untersuchung der lösenden Wirkung der Präparatlösung ankam, ließ ich von da an das Gemisch bei Zimmertemperatur stehen.

Erst am 27. Oktober 1905 untersuchte ich das Gemisch. Eine Probe wurde koaguliert, wobei nur eine ganz geringe Opalescenz entstand. Im Filtrat fiel die B. R. vollständig negativ aus. Nie zeigte sich eine rötliche Nuance, dagegen starke Reduktionserscheinung, indem die Farbe anfänglich ganz verschwand und erst bei Zusatz von 24 Tropfen Kupfer-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXVIII, S. 219.

²⁾ Zeitschrift f. Biologie, Bd. XIX, S. 207, 208.

lösung leicht grünlich-schwärzlich wurde. Eine geringe Menge frisch zugesetztes Pepton c zeigte aber eine deutliche B. R.

Man kann also nach einem Jahre aus einem Pankreas-extrakt ein Präparat darstellen, das (Schweine-?)Fibrinpepton vollständig zerstört. Ob die lange Zeit von abermals mehr als einem Jahre dazu erforderlich war, weiß ich nicht, da ich nicht früher untersuchte.

Versuch 2.

Am 7. Mai 1903 wurden einige ganze Pankreasdrüsen vom Rind mit Wasser angesetzt, um möglichst viel Hämoglobin zu extrahieren. Dieses Extrakt hatte am folgenden Tage schon eine recht gute Wirkung auf Fibrin: 10 Min.: deutl. Z.; 15 Min.: mäß. R.; 40 Min.: min. R. Es wurde weggeschüttet und die Pankreas erst jetzt zerkleinert und mit neuem Wasser übergossen. Nach 3 Tagen wirkte diese Lösung sehr gut auf Fibrin:

2 Min.: bg. Z.; 3 Min.: st. Z.; 5 Min.: kl. R.; 10 Min.: gelöst.

Am 22. Mai wurde das P. E. auf 35% Magnesiumsulfat gebracht, koliert und filtriert. Das Filtrat wurde mit Magnesiumsulfat und Natriumsulfat gesättigt und ein Trockenpräparat daraus hergestellt.

Am 25. Juni wurde eine Lösung dieses Präparats gemacht in dem Extrakt entsprechendem Verhältnis. Diese und eine Probe des Extraktes, deutlich alkalisch gemacht, wirkten auf Fibrin:

Extrakt: 5 Min.: bg. Z.; 10 Min.: st. Z.; 15 Min.: ger. R.; 20 Min.: min. R.
Präparatlösung: 5 Min.: st. Z.; 10 Min.: sehr ger. R.; 15 Min.: gelöst.

An diesem Tage wurden angesetzt je 50 ccm Extrakt und Präparatlösung mit je 10 g mit der Hand geprefstem Fibrin. Die Gemische kommen in den Wärmeschrank. Nach 8 Tagen gaben beide starke B. R. Am 13. Juli kommen sie aus dem Wärmeschrank. Das Extraktgemisch wurde nicht weiter untersucht. Das Präparatgemisch gab nach weiteren 14 Tagen noch deutliche B. R. Am 10. November war sie aber bis auf zweifelhafte Reste verschwunden.

Dieses Extrakt hatte also nach 18 Tagen jedenfalls keine sehr bedeutende ereptische Wirkung, wenn man z. B. die Erfahrungen Kutschers damit vergleicht, da in einer Fibrinverdauung nach 8 Tagen noch sehr gute Biuretreaktion vorhanden war. Eine Präparatlösung daraus wirkte in der gleichen Zeit nicht anders, bewältigte aber das Pepton aus Fibrin in 5 Monaten nahezu vollständig.

Versuch 3.

Das in dem obigen (S. 142) Versuch 3 erwähnte Präparat aus dem R. P. E. war in folgender Weise dargestellt worden: Am 7. Tage wurde

das P. E. kühlt und filtriert. Wie immer ging die Filtration sehr langsam vonstatten, so daß die Aussalzung in 2 Partien am 21. und 28. Januar in der Kälte vorgenommen wurde. Da Ammonsulfat das Trypsin auch aus alkalischer Lösung fällt, dabei aber weniger Albumosen niederschlägt, wurde das Extrakt mit Ammoniak deutlich alkalisch gemacht. Die Ammonsulfatniederschläge wurden gesammelt, abgepreßt, getrocknet und vereinigt. Das Gewicht des trockenen Präparates ergab, daß eine 1,4% ige Lösung dem P. E. entsprach. In diesem Verhältnis gelöst, wirkte das Präparat sehr gut tryptisch. Ich stelle hier die Wirkung des Extraktes am 18. Januar 1904 und die einer solchen Präparatlösung, beide mit Soda deutlich alkalisch gemacht, auf frisches Rindsfibrin zusammen:

Extrakt: 2 Min.: deutl. Z.; 5 Min. ger. R.; 10 Min.: gelöst.

Präparatlösung: 3 Min.: bg. Z.; 5 Min.: mäß. R.; 10 Min.: gelöst.

Mit einer solchen Präparatlösung wurden die folgenden Versuche gemacht:

a) Die Präparatlösung gab an und für sich eine schwache, aber deutliche B. R. Über Nacht im Wärmeschrank verschwand dieselbe bis auf zweifelhafte Reste.

b) Die Präparatlösung wurde mit Pepton b im Verhältnis von 7 : 1 versetzt. Nach 2 Tagen war die B. R. im Vergleich mit einer frisch zusammengesetzten Probe entschieden mehr blaupurpur. Der Versuch wurde nicht länger fortgesetzt.

c) Da Präparatlösungen in bezug auf ihre tryptischen Wirkungen bei 40° C. besonders leicht geschädigt werden und das wenige zugesetzte Pepton vielleicht nicht hinreichte, diese Schädigung zu verhindern, und um die Wirkungen von Extrakt und Präparatlösung unter möglichst gleichen Bedingungen zu haben, machte ich folgenden Versuch:

Eine Probe des noch übrig gebliebenen P. E. wurde am 20. Februar 1905 gekocht, wobei ein leichtes flockiges Koagulum entstand, und filtriert. Ferner wurden 0,28 g des Präparates in 4 ccm Wasser gelöst. 2 ccm davon wurden zu 10 ccm des gekochten Extraktes gesetzt (1). Die 2 andern Kubikzentimeter wurden gekocht und zu 10 ccm ungekochtem Extrakt gesetzt (2). Zu (1) und (2) kamen je 2 ccm Pepton b und beide Gemische wurden warm gestellt.

Die tryptische Wirkung dieser Gemische war sehr verschieden, da das Extrakt schon über ein Jahr alt war. Nämlich:

(1): 5 Min. deutl. Z.; 10 Min. ger. R.; 15 Min. gelöst.

(2): 20 Min. bg. Z.; 60 Min. kl. R.

Am folgenden Tag war die B. R. in beiden Proben noch sehr deutlich. Am 4. Tage war sie in beiden Proben ganz gleich, aber sehr schwach. Bei Zusatz von 3 Tropfen Kupferlösung war nur eine Spur Färbung zu sehen, bei 6 Tropfen war die Färbung schon hellviolett und ging dann immer mehr zu Blau.

d) Am 11. Mai 1904 wurden 100 ccm einer Lösung des Präparates in 2%iger Kochsalzlösung mit 20 g mit der Hand gepresstem Fibrin beschickt und warm gestellt. Am folgenden Tag war das Fibrin zu einer dünnen, rahmigen Flüssigkeit gelöst und wurde filtriert. Das Gemisch blieb bis Ende des Monats im Wärmeschrank, von da an bei Zimmertemperatur. Am 7. Juli war die B. R. nach Koagulation noch sehr stark. Gerade nach einem Jahr wurde nochmals untersucht. Beim Koagulieren entstand kaum eine Trübung; im Filtrat davon war die B. R. noch recht deutlich, ging nun allerdings bald zu violett über, nach weiteren 4 Monaten war sie immer noch deutlich, aber schwach.

e) Am 10. Februar 1906 wurde eine Lösung des Präparates hergestellt, indem dasselbe mit einer Lösung extrahiert wurde, die $\frac{1}{2}$ % Kochsalz und $\frac{1}{2}$ % Natriumbicarbonat enthielt. Diese Lösung wurde mit koaguliertem Hühnereiweiß beschickt. Das Eiweiß war schon vor einigen Monaten koaguliert und unter Toluolwasser aufbewahrt. Merkwürdig ist, daß solches Eiweiß eine Veränderung erleidet. Betrachtet man das Glas, worin das Eiweiß aufbewahrt ist, so ist zunächst nichts Auffallendes zu sehen. Die Eiweißwürfel sind glatt und vollkommen scharfkantig, das überstehende Wasser ganz klar. Rührt man aber um, so wird das Wasser trüb und die herausgenommenen Eiweißwürfel lassen sich leicht zu kleinen Stückchen zerdrücken.

Schon am folgenden Tage war das Eiweiß in der Präparatlösung bis auf geringe Reste gelöst. Am 15. Februar gab eine koagulierte Probe (bei der Koagulation trat nur ein Spur Opalescenz ein) gute B. R.; bei Sättigung mit Ammonsulfat entstand kaum eine Trübung. Am 2. März war die B. R. sehr schwach; schon bei Zusatz von 3 Tropfen Kupferlösung ging sie sehr zu violett.

Auch dieses Präparat hatte eine zweifellose ereptische Wirkung auf Pepton. Auffallend ist die Wirkung auf koaguliertes Eierweiß: denn wenn dies auch, als es in Verdauung gegeben wurde, die erwähnte Veränderung erfahren hatte, die darauf deutet, daß sich irgend ein Teil desselben gelöst hatte, so waren doch jedenfalls die schwerer löslichen Teile, in denen man am ehesten Antikörper vermuten durfte, zurückgeblieben. Da die Wirkung dieses Präparates auf Fibrin gering war, scheint es, daß koaguliertes Eierweiß leichter zerlegt wird als Fibrin.

Was die geringe Wirkung des Präparates auf letzteres betrifft, so kann sie daran liegen, daß die ereptische Wirkung des Extraktes auch im Anfang, wo das Präparat hergestellt worden war, nicht so groß war, um eine größere Menge Fibrin zu bewältigen, oder aber die reine Präparatlösung wirkt nicht so gut wie das frische Extrakt.

Daß aber auch Präparate, die durch Aussalzen gewonnen wurden, Fibrin mit der Zeit vollständig zerlegen können, haben wir Seite 146 gesehen. Allerdings war jenes Präparat durch eine Kombination von Magnesium- und Natriumsulfat erhalten, das vorliegende durch Ammonsulfat, so daß es vielleicht an der Art des Salzes liegt, ob man besser oder weniger gut ereptisch wirkende Präparate erhält.

Die Wirkung dieses Präparates auf zugesetztes Pepton war hier allerdings unter gewissen Bedingungen, nämlich seiner Lösung in gekochtem Extrakt, stark ereptisch. Dieselbe war auffallend gleich mit der des alten Extraktes bei sehr verschiedener tryptischer Wirkung der beiden. Auch die kräftige Wirkung auf Eierweiß zeugt von nicht geringer ereptischer Wirkung.

Demgegenüber mußte das Resultat des folgenden Versuches auffallen.

Ich habe schon gesagt (S. 142), daß ich das Präparat weniger mit Rücksicht auf Reinheit als auf gute tryptische Wirkung dargestellt hatte, indem ich hoffte, aus ihm reineres Enzym durch Lösungsmittel zu gewinnen, die dasselbe unter Zurücklassung der unwirksamen Eiweißkörper extrahierten. Zu letzteren gehört — wenn es sich nicht um Nucleinsäure handelt¹⁾ — ein mit Essigsäure fällbarer Körper, den Kühne²⁾ als Leucoid bezeichnet hat, und da auch diese Präparatlösungen mit Essigsäure einen Niederschlag gaben, und das Trypsin auch in verdünntem Alkohol löslich, jedenfalls löslicher als Eiweißkörper ist, so extrahierte ich eine Probe des Präparates mit einer Mischung von 30 ccm Alkohol (96^o/_o), 60 ccm Wasser und 1 ccm Eisessig. Das Filtrat wurde mit der gleichen Menge Alkohol gefällt. Der dabei entstandene feinflockige, sehr geringe Niederschlag wurde auf ein Filter gesammelt, dieses gepreßt und mit der Hälfte der dem P. E. entsprechenden Menge Kochsalzlösung (4^o/_o) gelöst. Eine Probe dieser Lösung, mit der gleichen Menge Wasser verdünnt, gab nur eine Spur B. R. und

¹⁾ Vgl. Umber, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. XLIII, Heft 3 u. 4.

²⁾ Verhandl. d. nat.-hist.-med. Vereins z. Heidelberg, N. F. Bd. I, S. 195.

wirkte auf frisches Fibrin: 3 Min. deutl. Z.: 5 Min. st. Z.: 10 Min. sehr kl. R.: 20 Min. minimale R.

Nun wurde der folgende Versuch angestellt:

Der größere Teil dieser Lösung (65 ccm) wurde zu 65 ccm einer 10%igen Witteschen Albumoselösung gesetzt (ich habe den Versuch früher gemacht, als mir eine der oben angeführten Peptonlösungen zu Gebote stand, die mit Essigsäure neutralisiert und filtriert war, so daß das Gemisch 5% der Albumose enthielt. Es blieb einige Tage im Wärmeschrank und dann bei Zimmertemperatur stehen. Nach acht Monaten war darin noch eine sehr kräftige B. R. zu konstatieren.

Der Versuch ist allerdings nicht ganz vergleichbar mit den mit dem Extrakt oder der zuletzt angeführten Präparatlösung angestellten, da hier eine größere Menge von Albumose zu bewältigen war, aber es war doch auffallend, daß die hier vorliegende Präparatlösung, die so gut tryptisch wirkte und die auch in der langen Zeit ihre tryptische Wirkung nicht eingebüßt hatte, wenn dieselbe auch sehr verringert war (das Gemisch löste jetzt eine Flocke Fibrin in einigen Stunden), von geringer ereptischer Wirkung war.

Ich habe den Versuch aber hauptsächlich deswegen erwähnt, weil er mich zu einem anderen führte. Das Enzym war hier der Alkoholbehandlung unterworfen worden: Kühne ist bei seinen Untersuchungen meist von seinem «Trockenpankreas» ausgegangen, das mit Alkohol und Äther behandelt war, und es lag deshalb nahe, Extrakte von solchem Pankreas mit frischen Extrakten zu vergleichen.

Vergleich von frischem Pankreasextrakt und Extrakt aus Trockenpankreas.

Am 31. Oktober 1905 erhielt ich frische Rinderpankreas vom Schlachthause. Sie wurden zerkleinert und der Brei gut mit der Hand gemischt. Ich teilte denselben in zwei Teile, von denen ich den einen in der Kühneschen Weise mit Alkohol und Äther behandelte und so das bekannte Trockenpankreas darstellte. 300 g des Breis wurden mit 600 ccm Wasser und Toluol bei Zimmertemperatur angesetzt.

Frisches Pankreasextrakt.

Versuch 1.

Am 2. November 1905 wurde eine Probe des Extraktes filtriert und koaguliert. Dabei entstand ein reichliches Koagulum; das Filtrat davon gab gute B. R.

Eine Probe des Extraktes wirkte schon an diesem Tage sehr energisch auf frisches Rindsfibrin:

2 Min. ?; 5 Min. mäß. R.; 10 Min. min. R.

Am 6. November verhielt sich das Extrakt in bezug auf die Koagulation ebenso. Das Filtrat gab deutliche B. R., aber mit starker Reduktionserscheinung. Am 10. November wurde abermals eine Probe filtriert. Im Filtrat vom Koagulum war eine B. R. nicht mehr zu erkennen. Das Pankreasextrakt hat also in 10 Tagen sein eigenes Pepton bei Zimmertemperatur bewältigt.

Versuch 2.

Dieses P. E. hat in seiner tryptischen Wirkung auffallend schnell abgenommen. Am 20. November gab eine filtrierte Probe nur noch ein mäßiges, flockiges Koagulum, die B. R. war = 0, also auch jetzt, nachdem inzwischen offenbar noch mehr Eiweiß peptonisiert war. Die Wirkung auf frisches Rindsfibrin war:

5 Min. deutl. Z.; 10 Min. ziemi. Z.; 20 Min. mäß. R.; 30 Min. sehr ger. R.;
40 Min. gelöst, etwas trüb.

Am 21. November wurde eine Probe des Extraktes angesetzt mit Pepton c im Verhältnis von 5 : 1 und warm gestellt. Am 27. November war im Auskoagulierten, wobei ein geringes flockiges Koagulum entstand, keine B. R. mehr zu erkennen.

Versuch 3.

Am 27. November wurden angesetzt: P. E. mit Pepton d im Verhältnis von 5 : 1 und warm gestellt. Am 5. Dezember entstand beim Koagulieren nur geringe Trübung; die B. R. war sehr zweifelhaft; von da an stand das Gemisch bei Zimmertemperatur. Am 23. Januar 1906 war keine B. R. mehr zu erkennen, aber starke Entfärbung des Kupfersalzes. Bei Zusatz von 15 Tropfen war die Farbe kaum grünlich und dabei etwas schwärzlich.

Versuch 4.

Am 3. November 1905 wurden 30 ccm des P. E. mit 10 g mit der Hand gepresstem frischen Fibrin beschickt und warm gestellt. Schon am 13. November fiel die B. R. mindestens zweifelhaft aus. Bei Zusatz von wenig Kupferlösung zeigte sich etwas rötliche Nuance, die aber beim Umschütteln verschwand. Bei Mehrzusatz wurde das Gemisch bald schmutzig und war nichts Rötliches mehr zu erkennen.

Versuch 5.

a Am 2. November 1905 wurden in 30 ccm P. E. 10 g mit der Hand gepresstes frisches Fibrin eingelegt und bei Zimmertemperatur 10 Minuten darin gelassen. Das Fibrin war zu dieser Zeit schon etwas angegriffen, aber wenig. Es wurde nun ausgewaschen, leicht mit der Hand gepresst und in 50 ccm einer Lösung gebracht, die 1% Kochsalz und $1\frac{1}{2}$ % Natriumbicarbonat enthielt. Nach einigen Stunden bei 40° C. wurde eine Probe der trüben Lösung koaguliert, wobei nur ein mäßiges, flockiges Koagulum entstand. Das Filtrat gab gute B. R. Von Ammonsulfat wurde dieses Filtrat in saurer und alkalischer Lösung kaum getrübt.

Da das Fibrin schon etwas angegriffen war und dadurch vielleicht Enzym, das sich wohl auf der Oberfläche niederschlägt, verloren gegangen sein konnte, wurden am 4. November in das Gemisch nochmals 10 g Fibrin gebracht, das im Freien (die Temperatur war allerdings nicht sehr niedrig) 10 Min. in 30 ccm P. E. gelegen hatte und ebenfalls gewaschen war. Nun blieb das Gemisch bei Zimmertemperatur. Am 9. November wurde es filtriert. Vom 10.—13. November stand es wieder bei 40° C., ebenso vom 17. November an. Am 7. Dezember schien die B. R. schwächer. Am 11. Dezember trat bei Koagulation nur eine geringe Trübung auf; im Filtrat war die B. R. recht schwach. Bei 3 Tropfen Kupfervitriol war sie blaßrosa, neigte aber bei 6 Tropfen schon recht zu Violett. Am 8. Januar 1906 war die B. R. nicht mehr zu erkennen. Am 3. Februar 1906 wurde nochmals untersucht. Im Filtrat vom Koagulierten gab Sättigung mit Ammonsulfat kaum eine Trübung. Bei der B. R. zeigte sich starke Reduktion, aber nur bei Zusatz von ganz wenig Kupfersalz war eine zweifelhafte rötliche Farbe zu erkennen.

b Gekochtes Fibrin, in gleicher Weise behandelt, ging auch in 2 Tagen bei 40° C. in Lösung, gab nach dem Koagulieren, wobei es sich kaum trübte, starke B. R. und bei Sättigung mit Ammonsulfat kaum Trübung. Es blieb von da an abwechselnd bei 40° und bei Zimmertemperatur. Das entstandene Pepton wurde aber in langer Zeit nicht bewältigt, indem die B. R. nach einem Monat noch sehr intensiv ausfiel, nach 2 weiteren Monaten auch noch sehr deutlich war, nun aber doch bald zu Violett neigte.

Der Versuch a) ist deswegen interessant, weil er zeigt, daß sich das peptonspaltende Agens des Pankreas in der Tat wie ein Enzym verhält, indem es sich auf dem Fibrin niederschlägt und diese geringen Substanzmengen eine bedeutende Wirkung haben.

Die geringere Wirkung auf gekochtes Fibrin rührt wohl daher, daß auf dieses Enzyme sich weniger gut niederschlagen.

Präparat-Lösung.

Ein Teil dieses Pankreasextraktes war am 21. November 1905 mit Ammonsulfat gesättigt worden: der dabei entstandene Niederschlag wurde gesammelt, abgepreßt und getrocknet. Eine in entsprechender Menge alkalischer Kochsalzlösung gelöste Probe wirkte mäßig gut tryptisch. Auf frisches Fibrin:

5 Min.: bg. Z.: 15 Min.: mäß. R.: 20 Min.: kl. R.:
30 Min.: sehr ger. R.

Mit dieser Lösung wurde folgender Versuch angestellt:

Versuch.

Die Lösung wurde mit Pepton d im Verhältnis von 10:2 versetzt und warm gestellt. Nach 7 Tagen war die B. R. deutlich geringer. Nach weiteren 20 Tagen war nur noch eine sehr zweifelhafte Spur von B. R. zu erkennen.

Daraus ersieht man, daß ein Ammonsulfatniederschlag aus einem gut ereptisch wirkenden Pankreasextrakt diese Eigenschaft ebenfalls besitzt. Aber während bei Versuch 3 mit dem Extrakt (S. 151) bei Zusatz von Pepton die Biuretreaktion nach 8 Tagen nur mehr sehr zweifelhaft war, war sie hier nach 7 Tagen bei Zusatz des gleichen Peptons in gleichem Verhältnis nur deutlich geringer. Dieses deutet wieder auf eine etwas schwächere Wirkung der Präparatlösung. Die Versuche sind auch deshalb vergleichbar, weil das Präparat ungefähr zu der Zeit hergestellt war, wie der Versuch mit dem Extrakt, sogar noch einige Tage früher.

Ohne weitere Versuche näher zu beschreiben, will ich nur noch erwähnen, daß eine größere Menge Fibrin auch von dieser Präparatlösung nicht ganz zerlegt wurde, während eine Eiweißverdauung nach der gleichen Zeit nur noch Spuren von Biuretreaktion zeigte.

Extrakt aus Trockenpankreas.

a) Von dem oben erwähnten, nach Kühne aus diesem Pankreas dargestellten Trockenpankreas wurde ganz nach dessen Vorschrift am 15. November 1905 ein Extrakt bereitet. Es wurden nämlich 5 g mit 25 ccm Salicylsäure 1% und Toluol (statt Thymol) einige Stunden bei 40° C. stehen gelassen, dann abgepreßt; der Prefrest nochmals alkalisch digeriert. Ich nahm dazu eine Lösung, die $\frac{1}{2}$ % Kochsalz und $\frac{1}{2}$ %

Natriumbicarbonat enthielt), nach 12 Stunden abermals abgepreßt, beide Flüssigkeiten vereinigt und filtriert. Diese Mischung wirkte auf frisches Rindsfibrin:

5 Min.: bg. Z.: 10 Min.: zieml. Z.: 20 Min.: ger. R.: 30 Min.: gelöst.

Dies Extrakt gab koaguliert ein reichliches Koagulum und das Filtrat davon sehr starke B. R., bei Sättigung mit Ammonsulfat eine mäßige, zum Teil an der Wand haftende Fällung. Es kommt ohne weiteren Zusatz in den Wärmeschrank.

Am 20. November wurde eine Probe filtriert (es hatte sich Tyrosin ausgeschieden). Beim Koagulieren entstand jetzt nur eine schwache Trübung: das Filtrat davon gab intensive B. R.

Am 27. November war die B. R. unter gleichen Bedingungen noch sehr gut, am 11. Dezember hatte sie aber abgenommen: sie war noch sehr deutlich, aber die Farbe war nicht mehr so gesättigt und ging bei Zusatz von mehr Kupferlösung zu bläulichem Purpur.

b) Am 14. Dezember 1905 wurde nochmals in ganz der gleichen Weise ein Extrakt aus dem Trockenpankreas dargestellt, das ungefähr ebenso auf frisches Fibrin wirkte und nach dem Koagulieren intensive B. R. gab. Am 15. Dezember wurde es warm gestellt. Am 8. Januar 1906 war die B. R. noch sehr gut, wenn auch schwächer als anfangs, ebenso verhielt es sich am 15. Januar. Am 16. Februar war noch immer recht deutliche B. R. vorhanden, aber die Farbe war blasser.

Daß die Biuretreaktion zuletzt abnimmt, würde sich auch mit Kühns Theorie vertragen, da ja nach ihm das Trypsin die eine Hälfte des Peptons ganz zersetzt. Sie war aber immer noch stärker als bei den kürzer dauernden Versuchen mit frischen Pankreasextrakten. Nun ist ja allerdings das nach Kühne aus Trockenpankreas hergestellte Extrakt konzentrierter, als man Extrakte aus frischem Pankreas zu machen pflegt. In diesem Falle repräsentierte das angewandte frische Pankreas nur etwa die Hälfte feste Substanz als das Trockenpankreas auf gleiche Mengen Wasser bezogen. Betrachtet man aber z. B. den Versuch 4 mit frischem Extrakt, wo die reichliche Fibrinmenge, respektive deren Pepton in viel kürzerer Zeit bewältigt wurde, so wird man zugeben, daß hier eine sehr verzögerte Wirkung vorlag. Auch ist nicht etwa das Pepton, das bei diesen Trockenpankreasextrakten entsteht, besonders schwer zu bewältigen, wie der folgende Versuch zeigt.

Am 11. Januar 1906 wurde eine Probe des seit 14. Dezember 1905 digerierten Trockenpankreasextraktes gekocht und zu einem Teil davon die gleiche Menge des frischen (d. h. jetzt schon über 2 Monate alten)

P. E. gesetzt und warm gestellt. Schon nach 4 Tagen war die B. R. nicht mehr zu erkennen, während sie in einem nun frisch zusammengegossenen Gemisch des damals gekochten Extraktes mit gleichen Teilen des frischen (das längst seine eigene B. R. verloren hatte) sehr deutlich war.

Ich hebe hier hervor, daß die Behandlung des Pankreas mit Alkohol und Äther eine wesentliche Schwächung der ereptischen Wirkung dieser Drüse bedingt. Die tryptische Wirkung dieses Trockenpankreasextraktes war geringer als die des Extraktes der frischen Drüse. In einer späteren Zeit jedoch war die Wirkung des letzteren ganz gleich mit der des Trockenpankreasextraktes (S. 151 u. 153) und doch hat jenes zugesetztes Pepton in kurzer Zeit zersetzt. Da nun Kühne, gestützt auf die ausgezeichnete fibrinlösende Wirkung, die er auch mit solchen Extrakten erhielt, dieselben an die Stelle frischer setzen zu dürfen glaubte, erklärt sich, warum er die Pankreasverdauung in jenem früheren Stadium Halt machen fand. Dabei bleibt aber die Frage noch offen, ob Kühne mit einem geschädigten Enzym gearbeitet hat oder durch seine Behandlung nur ein Enzym — das Erepsin — beseitigt oder geschwächt worden war, wodurch vielleicht die Wirkung des spezifischen Pankreasenzym, des Trypsins, reiner zutage trat. Die geringe Peptonreaktion, die Kutscher und Kühne nach sehr langer Zeit der Digestion auch bei Trockenpankreasextrakten fanden, könnte auf Reste jenes Enzyms zurückzuführen sein.

Aus den bisherigen Versuchen geht hervor, daß frische Pankreasextrakte eine bedeutende ereptische Wirkung haben, daß aber mancherlei Bedingungen und Eingriffe diese herabzusetzen imstande sind bei oft gut erhaltener fibrinlösender Wirkung. Um aber diese ereptische Wirkung auf ein besonderes Enzym, ein Pankreaserepsin beziehen zu dürfen, war es wünschenswert, die tryptische Wirkung auszuschließen, die ausgeschlossen sein mußte, wenn das Pankreasextrakt nicht fibrinlösend wirkte.

Die Hoffnung, alte Extrakte zu finden, in denen vielleicht einmal die tryptische Wirkung erloschen, die ereptische noch erhalten war, wurde nicht verwirklicht, da jahrelang auf-

bewahrte Extrakte und sogar verschiedene Präparatlösungen, die doch an tryptischer Wirkung leichter einbüßen als die Extrakte, noch immer, wenn auch oft schwach, fibrinlösend wirkten. Eine oft angestellte Kontrollprobe schützte vor Irrtümern, die durch eine Lösung des Fibrins an und für sich bedingt sein konnten.

In Anbetracht der Tatsache, daß sich das Trypsin sehr leicht auf den verschiedensten Körpern niederschlägt, habe ich die verschiedensten Dinge probiert, um auf diese Weise das Trypsin zu entziehen. In hervorragendem Maße besitzt diese Eigenschaft das Fibrin, aber es war, wenigstens in der Zeit, in der man es in den Extrakten — auch wenn sie kalt waren — belassen konnte, ohne daß es wesentlich angegriffen wurde, nicht imstande, das Trypsin vollständig zu entziehen, sondern solche Extrakte wirkten dann sogar noch recht gut tryptisch. Auf der andern Seite haben wir gesehen, daß Fibrin auch das ereptische Prinzip an sich zu fesseln vermag. Nicht anders verhielt es sich mit Substanzen, die vom Fibrin nicht angegriffen werden, bindegewebiger Natur, von denen sich wenigstens eine, die Hausenblase, mit Recht des Rufes erfreut, viele Dinge auf sich niederzuschlagen. Aber auch so erhielt ich keine trypsinfreien Lösungen. Ich führe viele andere Versuche nicht an, weil sie alle das gleiche Resultat hatten, z. B. auch das schon von Danilewski¹⁾ angewandte Collodium. Nur bei einer Substanz konnte ich eine Angabe Kühns²⁾ bestätigen, daß sie Trypsinlösungen vollständig unwirksam machen kann, dem Celloidin, das ja auch Nitrocellulose ist. Leider ist das nicht immer der Fall. Das geringe Material von Celloidinschnitten, das noch von Kühns Versuchen übrig war, reichte nur zu einem Vorversuch aus, bei dem ich die Angabe bestätigen konnte, aber ein Celloidin anderer Provenienz entbehrte ebenfalls der Eigenschaft, das Trypsin vollständig auf sich niederzuschlagen.

War so das Trypsin aus Pankreaslösungen nicht zu entfernen, so gelang vielleicht eine Isolierung des Erepsins.

¹⁾ Virchows Archiv. Bd. XXV, S. 279.

²⁾ Zeitschr. f. Biol., Bd. XXVI, 1890, S. 291 (S. 317, 318).

Ich habe schon in meiner früheren Arbeit berichtet, daß ich gestützt auf die Befunde von Cohnheim und Jakoby über die verschiedene Aussalzbarkeit der beiden Enzyme Versuche mit fraktionierter Aussalzung gemacht habe, daß aber auch bei alten Extrakten schon unterhalb der von Jakoby angegebenen Grenze ein Teil des Trypsins ausfällt, und ich habe diese Versuche an verschiedenen Extrakten wiederholt, aber auch jetzt nie ganz trypsinfreie Fällungen erhalten.

Versuche mit Katzenpankreas.

Es gibt ein Objekt, an dem man hoffen durfte, die Frage zu entscheiden, es ist dies das Katzenpankreas. Nach Cohnheim¹⁾ sind frische Katzenpankreas meist trypsinfrei und auch Vernon²⁾ hat einen Versuch gemacht, wobei er die Drüse, wenigstens am Anfang, trypsinfrei fand.

Dieses Objekt hatte auch den Vorteil, mit ganz frischen, dem Tier mit Sorgfalt entnommenen Drüsen arbeiten zu können, was gegenüber den vom Schlachthause bezogenen Drüsen schon deshalb nötig erscheinen muß, weil dort eine Berührung mit kinetischem Darmsaft keineswegs ausgeschlossen ist. Wir haben hier öfter Rindspankreas erhalten, an denen noch ein Stück Duodenum haftete. Außerdem hat Sachs³⁾ gezeigt, daß es ein Enzym im Pankreas gibt, das nur in ganz frischen Extrakten wirksam ist, während es später seine Wirkung vollkommen einbüßt: die Nuclease. Wenn wir auch schon bisher gesehen haben, daß sich die ereptische Kraft des Pankreas lange erhält, so war doch von frischen Drüsen vielleicht eine besonders intensive Peptonspaltung zu erwarten.

Da Herr Kollege Cohnheim für seine Untersuchungen über Glykolyse viel Katzenfleisch verarbeitete, stand mir eine reichliche Menge dieser Tiere zu Gebote.

Die Drüsen wurden sofort nach dem Tode des Tieres herauspräpariert und anfangs mit Quarzsand zerrieben: später

¹⁾ Arch. des sciences Biologiques de St. Pétersb., t. XI, supplément.

²⁾ a. a. O., S. 343, 344.

³⁾ Ist die Nuclease mit dem Trypsin identisch? Dissert. Heidelberg. Hörning 1905 und Diese Zeitschrift, Bd. XLVI, S. 337.

zerkleinerte ich sie nur mit der Schere, da die so bereiteten Extrakte in nichts nachstanden. Extrahiert wurde immer mit alkalischen Lösungen, um Spaltung von Zymogen möglichst zu vermeiden.

Um die Wirkung der Extrakte in ganz frischem Zustande zu erkennen, wurde bisweilen direkt beim Ansetzen Fibrin zugegeben.

Da aber bei zu kurzer Extraktion vielleicht nur wenig Enzym in Lösung ging, wurde ein Teil der Extrakte auch erst geprüft, nachdem einige Tage digeriert worden war.

Versuch 1.

8,12 g einer eben getöteten Katze entnommenes Pankreas wurden mit Quarzsand und 1 cem 5%iger Natriumbicarbonatlösung zerrieben, dann 80 cem toluolisirtes Wasser dazugesetzt.

Nachmittags wurde angefangen zu filtrieren und zu 3 cem des Filtrates 1 cem Pepton a zugesetzt und warm gestellt.

Am folgenden Tag fiel die B. R. nach dem Koagulieren gegen ein in gleichem Verhältnis frisch bereitetes Gemisch entschieden mehr violett aus.

An diesem zweiten Tage wurden angesetzt und in den Wärmeschrank gestellt:

1. 13,5 cem des Katzenpankreasextraktfiltrats + 2 cem Pepton a.
2. K. P. E. + Fibrin.
3. K. P. E. + Pepton a, das damit schon einen Tag bei 40° C. gestanden hatte, + Fibrin.
4. K. P. E., nach Heidenhain mit Essigsäure behandelt und wieder alkalisch gemacht + Fibrin.

Am folgenden Tag (3. Tag) zeigte

1. noch sehr deutliche Biuretreaktion: in
 2. ist das Fibrin nicht wesentlich verändert: in
 3. u. 4. ist das Fibrin gelöst.
1. kam nochmals 24 Stunden in den Wärmeschrank. Nun verschwand bei der Biuretprobe, bei sehr wenig Kupferzusatz, die Farbe, während ein in gleichem Verhältnis frisch zusammengedossenes Gemisch mit ebensoviel Kupfer deutlich rot wurde. Bei Zusatz von etwas mehr Kupfer war die Farbe in beiden Proben nahezu gleich; wurde noch mehr zugesetzt, so ging das Digerierte sehr zu violett, und zu gleicher Zeit mischte sich eine schwärzliche Nuance bei.

Dieses Gemisch löste heute (4. Tag) eine Fibrinflocke in 5 Stunden auf.

Am 6. Tag wurde nochmals angesetzt und warm gestellt:

1. K. P. E. + Fibrin.
2. K. P. E. + Pepton a + Fibrin.

Am folgenden Tag war das Fibrin in beiden etwas zerfallen.

An diesem Tage wurde nochmals angesetzt: 6 cem P. E. + 1 cem Pepton a. Am folgenden Tag (8. Tag) war der Unterschied in der B. R. gegen frisch Zusammengeschossenes sehr gering, nur etwas bälder zu bläulicher Nuance neigend.

Dies Katzenpankreasextrakt war mit der 10fachen Menge Wasser unter Zusatz von etwas Natriumbicarbonat gemacht, ein Verhältnis, das Cohnheim für seine Erepsinlösungen aus Darm anwendet. Es war also ziemlich verdünnt. Trotzdem wirkte es in den ersten 24 Stunden deutlich auf Pepton. Gleichzeitig wurde leider kein Versuch mit Fibrin gemacht, wohl aber am folgenden Tage. Vom 2. zum 3. Tage wurde dieses nicht angegriffen, eine tryptische Wirkung war also nicht zu konstatieren. Aber das Extrakt enthielt Zymogen, wie durch den Versuch von Heidenhain nachgewiesen wurde. In Anwesenheit von Pepton (Casein-Pepton) wirkte das Extrakt aber auch fibrinlösend, also gerade unter den Umständen, unter denen es auf ein anderes Enzym als das Trypsin, nämlich auf Erepsin geprüft werden sollte. Ob dies Pepton nur eine geringe, schon vorhandene Menge Trypsin unterstützte und manifest machte, oder ein Zymogen spaltete, ist schwer zu entscheiden. Die auffallende Steigerung der fibrinlösenden Wirkung, nachdem das Extrakt mit Pepton 2 Tage warm gestanden hatte, läßt jedoch eher eine Spaltung von Enzym vermuten. Am 6. Tage hatte die Wirkung auf Fibrin abgenommen, und auch die ereptische Wirkung nachgelassen.

Versuch 2.

2 Pankreas von eben getöteten Katzen (zusammen 14 g) wurden mit etwas Natriumbicarbonatlösung zerrieben und in Alkohol gebracht; der Alkohol wurde nach einigen Stunden erneuert und nach einigen Tagen durch Äther ersetzt. Wieder nach einigen Tagen wurde das Präparat getrocknet und stellte rein weiße Flocken dar. Diese wurden in einem Verhältnisse, das 1 : 10 des frischen Pankreas entsprach, mit 0,3% iger Bicarbonatlösung einige Stunden extrahiert, abfiltriert, auf 0,6% Kochsalz gebracht und angesetzt:¹⁾

¹⁾ Im folgenden ist unter «angesetzt» immer zugleich auch zu verstehen, daß die Probe warm gestellt wurde.

1. 18 ccm : 3 ccm Pepton b.
2. Probe dieses Gemisches + gekochtes Fibrin.
3. „ „ „ + rohes Fibrin.
4. „ „ „ gekocht + rohes Fibrin.

Am folgenden Tag zeigte sich das Fibrin in 4 unverändert, in 3 war ein Teil der Flocke gelöst, in 2 Fibrin unverändert. Nach einem weiteren Tag Digestion war Fibrin in 3 gelöst, in 2 stark zerfallen. 1 zeigte nach 24 Stunden Digestion gar keine Abnahme der B.R.

Man kann also aus ganz frisch mit Alkohol und Äther getrocknetem Katzenpankreas in kurzer Zeit ein alkalisches Extrakt bereiten, das, wenn auch schwach, lösend, aber gar nicht ereptisch wirkt.

Versuch 3.

4.75 g frisches Katzenpankreas wurden mit etwas Natriumbicarbonatlösung zerrieben und zwar mit soviel, daß, nachdem die Masse mit 50 ccm 0,6%iger Kochsalzlösung übergossen war, diese zugleich eine 0,1%ige Bicarbonatlösung darstellte. Dies Gemisch blieb bei Zimmertemperatur stehen und wurde nach einigen Stunden filtriert. Sofort wurden angesetzt:

1. 6 ccm K. P. E. + 1 ccm Pepton b.
2. Probe dieser Mischung + rohes Fibrin.
3. 3 ccm K. P. E. + 0.5 ccm 5%ige Sturionsulfatlösung.

Am folgenden Tag zeigte die Fibrinflocke keinen Zerfall.

1 wurde mit einem in gleichem Verhältnis frisch zusammengesetzten Gemisch verglichen. Beide wurden koaguliert, wobei ein geringes flockiges Koagulum entstand, filtriert und auf Pepton untersucht. Die B. R. war deutlich verschieden: bei wenig Kupferzusatz allerdings nicht sehr viel, bei in beiden immer gleichbleibendem Mehrzusatz, aber in dem Digerierten viel schneller zu blau neigend.

3 genau behandelt wie 2 gab sehr geringe B. R. Bei Zusatz von sehr wenig Kupferlösung erschien ein ganz schwaches Rosa, bei Zusatz von etwas mehr ging die Farbe sehr bald zu reinem Blau.

Bei diesem frischen, alkalischen Katzenpankreas war also ein deutlicher Einfluß auf Pepton bemerkbar in einer Zeit, in der keine fibrinlösende Wirkung zu konstatieren war, auch nicht bei Anwesenheit von Pepton. Bei der Protonlösung, die, wie wir gesehen haben (S. 142), leicht zersetzt wird, war sie nahezu vollkommen: denn die geringe Spur von Biuretreaktion konnte aus dem Pankreas selbst stammen, was hier zu untersuchen unterlassen worden war.

Dieser Versuch stellt ein Gegenstück zu dem letzten dar, hier haben wir deutliche Zersetzung von Pepton bei fehlender

fibrinlösender Wirkung, dort eine, wohl geringe, lösende, aber keine peptonspaltende.

Wenn aber auch eine fibrinlösende Wirkung zu der Zeit, wo das Pepton angegriffen wurde, nicht bemerkbar war, so enthielt das Pankreas dennoch geringe Mengen Trypsin: denn einmal zeigte die oben erwähnte Fibrinflocke, nachdem sie aus dem Verdauungsgemisch in Wasser gebracht worden war, nach weiteren 24 Stunden bei Zimmertemperatur deutlichen Zerfall, und weiter hatte eine aus diesem Extrakte erhaltene Ammonsulfatfällung deutlich fibrinlösende Wirkung.

Es wurde nämlich auch an diesem K. P. E. der Versuch gemacht, Erepsin zu isolieren. Deshalb wurde ein Teil des Extraktes am Tage nach seiner Bereitung im Verhältnis, wie es Cohnheim angibt, mit gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, wobei ein flockiger Niederschlag entstand. Dieser wurde gesammelt, abgepreßt und in einer dem angewandten Extrakte gleichen Menge einer Lösung gelöst, die 1% Kochsalz und 0.5% Bicarbonat enthielt. Von dieser Lösung wurden angesetzt:

1. 12 ccm Lösung + 2 ccm Pepton b.
2. Probe dieser Mischung + Fibrin.
3. » » » , gekocht + Fibrin.

Am folgenden Tage war die Fibrinflocke in 3 unverändert, in 2 gelöst, dagegen fiel in 1 die Biuretreaktion kaum anders aus als vor der Digestion. Der Ammonsulfatniederschlag hatte also geringere ereptische Wirkung, dagegen war darin zweifellos Trypsin nachgewiesen und dessen Anwesenheit in dem Extrakt eher zu vermuten als etwa nur ein Zymogen, das durch diese Behandlung gespalten worden wäre, da dem Ammonsulfat nach Zunz,¹⁾ wenigstens für das Trypsinogen des Hundepankreassaftes, keine kinetische Eigenschaft zukommt. Am zweiten Tage konnte schon mehr Trypsin extrahiert sein, aber auch am ersten Tage waren schon geringe Mengen in Lösung.

Da also in diesem Katzenpankreas Trypsin angenommen werden mußte, wurde noch ein anderer Versuch damit gemacht, der bezweckte, dieses daraus zu entfernen. Wie erwähnt, schlägt Fibrin Trypsin auf sich nieder. Es war denkbar, daß durch solches dem Extrakte die geringe darin vorhandene Menge Trypsin hier vielleicht ganz entzogen werden könnte.

Es wurde deshalb eine Probe des Extraktes mit reichlich frischem, mit der Hand gepreßtem Fibrin beschickt, dieses eine halbe Stunde

¹⁾ Société royale des sc. méd. et nat. de Bruxelles. Bullet. de la séance de janvier 1906; 64^e année, n^o 1.

darin gelassen und dann wieder herausgenommen, resp. das Extrakt wieder abgepreßt und in der gleichen Weise wie oben mit Ammonsulfatlösung gefällt. Der dabei entstandene Niederschlag, in alkalischer Kochsalzlösung ebenfalls wie oben gelöst und in gleichem Verhältnis mit Pepton b versetzt, brachte aber eine Flocke rohen Fibrins in 24 Stunden zur Lösung und gekochtes Fibrin zu starkem Zerfall, zeigte also noch immer eine zweifellos tryptische Wirkung.

Versuch 4.

4.75 g frisches K. P. mit 1 cem 5%iger Bicarbonatlösung zerrieben und 50 cem Wasser darüber gegossen. Nach einigen Stunden filtriert.

Am folgenden Tag wurden angesetzt:

1. P. E. allein.
2. P. E. 10 : 2 Pepton a.
3. P. E. + rohes Fibrin.
4. P. E. + gekochtes Fibrin.
5. P. E. gekocht + rohes Fibrin.
6. Probe von 2 + rohes Fibrin.

Am folgenden Tag war in 5 das Fibrin unverändert; in 6, aber auch in 3 das Fibrin gelöst; in 4 das gekochte Fibrin bis auf geringe Reste gelöst. Ein Vergleich von 2 mit 1, dem jetzt die gleiche Menge Pepton a zugefügt wurde, ergab gar keinen Unterschied in der Biuretreaktion.

Der Unterschied gegen die letzten Versuche lag bei diesem darin, daß das Extrakt erst am folgenden Tage nach seiner Bereitung verwendet wurde und daß es nur mit Bicarbonat ohne Kochsalz bereitet war. Es zeigte zweifellos Trypsinwirkung, aber keine ereptische. Daß kein Kochsalz angewandt wurde, ist ohne Belang, da ein ebenso bereitetes Extrakt (Versuch 1) peptonzerlegend gewirkt hatte. Ob es am ersten Tag wie das Extrakt in Versuch 1 peptonzerlegend gewirkt hätte, wurde nicht festgestellt, dagegen ist der Unterschied gegen jenen Versuch bemerkenswert, daß das vorliegende Extrakt vom zweiten zum dritten Tage auch ohne Pepton Fibrin löste, was dort nicht der Fall war.

Versuch 5.

8.25 g K. P. mit Seesand zerrieben und mit 80 cem 0.25%iger Bicarbonatlösung versetzt und nach einigen Stunden filtriert. Am folgenden Tag wurde alles wie bei Versuch 4 angesetzt. Am folgenden (3.) Tag war der Erfolg in bezug auf Fibrin und Pepton a der gleiche wie bei Versuch 4, nur neigte die Biuretreaktion bei dem Digerierten etwas früher, aber doch wenig zu Violett.

Da nach Vernons Ansicht das Erepsin des Pankreas später vom Trypsin zerstört wird und ich die Katzenpankreasversuche früher begonnen hatte, als mir die Haltbarkeit der ereptischen Wirkung beim Rindspankreas bekannt war, waren bisher nur kurzdauernde Versuche angestellt worden. In den Versuchen 4 und 5, die erst am zweiten Tage nach der Extraktion des Pankreas angestellt waren, war die Wirkung auf Pepton sehr gering und auch in Versuch 1 hatte sie nach einiger Zeit entschieden nachgelassen. Da wir aber beim Rindspankreas gesehen haben, daß geringer peptonspaltende Extrakte in längerer Zeit doch erhebliche Wirkungen hervorzubringen imstande sind, war das auch für die gering ereptisch wirkenden Katzenpankreas zu probieren.

Es wurde deshalb die Probe K. P. E. + Pepton von Versuch 4 am 3. Tage wieder warm gestellt und am 5. wieder untersucht. Jetzt fiel die Peptonreaktion entschieden geringer aus, denn sie neigte rascher zu Violett und war schon bei Zusatz von 10 Tropfen der Kupferlösung kaum mehr zu erkennen, da die Farbe nun fast rein blau geworden war. Nach weiteren 3 Tagen Digestion fiel die Biuretreaktion aber noch ebenso aus.

Vernon hat aber weiter gefunden, daß das Trypsin mit der Zeit und namentlich bei 40° C. leicht zerstört werde. Es war also denkbar, daß man das Trypsin auf diese Weise bei diesem Katzenpankreas — da es nur wenig war — ganz zerstören konnte und so vielleicht eine reine Erepsinwirkung erhalten, da sich dieses doch nicht als so leicht zerstörbar erwiesen hatte.

Es wurde deshalb der Rest des K. P. E. am 16. Tage nach seiner Bereitung bis zum 21. Tag bei 40° C. gehalten. Nun war die fibrinlösende Wirkung allerdings verringert. Das Extrakt wirkte auf gekochtes Fibrin in Tagen nicht mehr ein (eine Flocke rohen Fibrins zeigte sich allerdings nach 2 Tagen gelöst), aber jetzt zugesetztes Pepton wurde auch in 9 Tagen bei 40° C. kaum mehr angegriffen.

Versuch 6.

6,05 g frisches K. P. mit Sand zerrieben + 60 cem Bicarbonat. Das Extrakt wurde erst am 3. Tage filtriert und wie die beiden letzten angesetzt. Die Wirkung auf Fibrin war gering. 1 Tag bei 40° C. zerfiel dasselbe erst beim Schütteln; bei dem, das auch noch Pepton enthielt, zu feineren Partikeln; eine ereptische Wirkung war kaum vorhanden.

Da die letzten Versuche vermuten ließen, daß etwa vorhandenes Erepsin bald in seiner Wirkung wenigstens geschwächt wurde und da Kutscher sehr bald Zerstörung des Peptons sah, wenn er frisches Pankreas und Fibrin sofort zusammen ansetzte, wurde ein Versuch folgendermaßen angestellt.

Versuch 7.

2.9 g frisches K. P. mit Sand zerrieben + 30 ccm 0,25%iges Bicarbonat. Davon sofort mit den Pankreasparkeln angesetzt:

1. P. E. allein.
2. P. E. + rohes Fibrin.
3. P. E. + Pepton a (12 : 3).
4. Probe von 3. + rohes Fibrin.

Am folgenden Tag war das Fibrin in dem reinen Extrakt nur angegriffen, in dem mit Pepton stark zerfallen, aber auch die B. R. zeigte kaum Unterschiede gegen eine Probe von 1 mit entsprechend frisch zugesetztem Pepton. 1 allein, filtriert und koaguliert, gab sehr schwache Biuretreaktion.

Wenn, wie hier, so wenig Trypsin vorhanden ist, ist schwer zu sagen, ob bei dem Extrakt allein die geringe Biuretreaktion daher rührte, daß etwa gebildete Peptone schon weiter zerstört waren, oder daher, daß noch gar keine gebildet waren. Auf zugesetztes Pepton wirkte dieses Extrakt, obwohl es sofort angesetzt war, kaum zerlegend. Sollten hier Antifermente im Spiel sein?

Versuch 8.

Dieser Versuch wurde in genau der gleichen Weise angestellt wie Versuch 7. Rohes Fibrin wurde hier im Extrakt + Pepton a über Nacht ganz gelöst (ein Versuch mit Extrakt allein und Fibrin war nicht gemacht worden). Eine Probe auf Veränderung des Peptons scheiterte daran, daß das Extrakt sowohl sofort, als auch nachdem es über Nacht bei 40° C. gestanden hatte, deutliche B. R. gab und daneben eine Veränderung des zugesetzten Peptons nicht zu erkennen war. Jedenfalls war die Einwirkung dieses Extraktes auf Pepton gering.

Versuch 9.

7.5 g K. P. mit Sand zerrieben + 70 ccm 0,25%iges Bicarbonat. Am folgenden Tag filtriert und angesetzt.

1. P. E. allein (das die B. R. gibt).
2. P. E. + Pepton b (20 : 5).
3. 1 + rohes Fibrin.
4. 2 + rohes Fibrin.

Am folgenden Tag ist das Fibrin in 3 und 4 gelöst.

Am 7. Tage nach dem Ansetzen gibt das P. E. allein nur sehr geringe B. R. In 2 war eine wesentliche Verringerung der B. R. bemerkbar. Es neigte im Vergleich zu 1, dem jetzt die entsprechende Peptonmenge zugesetzt war, schon bei 3 Tropfen Kupferlösung mehr zu Violett und war bei Zusatz von 6 Tropfen fast rein blau. Bei Zusatz von wenig Kupferlösung war also immer noch etwas B. R. zu erkennen und dieser Rest verschwand auch nicht, nachdem das Gemisch 9 weitere Tage bei 40° C. gestanden hatte.

Dieser Versuch zeigt, daß Katzenpankreasextrakt, das erst am zweiten Tage mit Pepton, in diesem Falle Pepton b, angesetzt war, dieses im Verlauf einiger Tage bei 40° C. fast vollständig zerstört, die letzten Reste aber nicht bewältigt. Daneben war das Extrakt aber von nicht unwesentlicher fibrinlösender Wirkung.

Versuch 10.

Ein frisches K. P. war mit Sand zerrieben worden und ich kam aus äußeren Gründen erst nach einer Stunde dazu, dasselbe mit ungefähr der 10fachen Menge 0.25%iger Bicarbonatlösung zu versetzen. Schon nachdem es nur eine weitere Stunde damit gestanden hatte, wurde filtriert und angesetzt.

1. Extrakt allein.
2. Extrakt + Pepton a (3:2).
3. Probe von 2 + rohes Fibrin.

Am folgenden Tag schienen noch Fibrinreste vorhanden zu sein, diese zerstoßen aber beim Schütteln zu einer trüben Lösung.

Nach 6 Tagen Digestion gab 1 kaum B. R., in 2 war sie nur wenig geändert gegen 1 mit frisch zugesetztem Pepton. nach 9 weiteren Tagen war dagegen eine sehr wesentliche Abnahme zu konstatieren, die bei 3 Tropfen Kupferlösung schon zu Violett neigte, bei 10 Tropfen fast rein blau ausfiel.

Dieses erst eine Stunde nach dem Tode des Tieres bereitete Extrakt hatte deutliche tryptische Wirkung: die peptonspaltende war anfangs gering, das dieselbe bewirkende Enzym hatte aber langsam weiter gewirkt und die Zerstörung recht weit gebracht, trotzdem daß in diesem Versuch im Verhältnis zur Extraktmenge mehr Pepton zugesetzt war.

Die bisherigen Extrakte waren alle mit alkalischer Lösung gemacht, die sofort nach dem Tode des Tieres angewandt war. Die tryptische Wirkung dieser Extrakte war nie bedeutend, denn ich habe gesehen, daß nach etwa 5 Stunden Fibrin auch in den peptonhaltigen Extrakten noch nicht angegriffen war,

während es am folgenden Tag gelöst war. Daß es sich bei der Lösung nicht etwa um Enzyme im Fibrin handelte, habe ich häufig durch Kontrollproben konstatiert. Da man aber immer Zymogen vermuten konnte, das im Verlauf des Versuches zu Trypsin verwandelt wurde, welches aber vielleicht später wieder zerstört wurde, war es nicht uninteressant, zu erfahren, ob auf andere Weise aus dem Katzenpankreas nicht besser tryptisch wirkende Extrakte zu gewinnen waren. Wenn auch in Versuch 1 die Behandlung nach Heidenhain ergeben hatte, daß ein Extrakt dabei besser wirkte als ein nicht so behandeltes, so war doch dort nicht darauf geachtet worden, wie rasch die Fibrinlösung vor sich ging. Da ich bei Rindspankreas die Erfahrung gemacht habe, daß man bei Extraktion mit Wasser sehr bald kräftig wirkende Extrakte erhält, wurde dies auch bei einem Katzenpankreas probiert.

Versuch 11.

2.2 g frisches K. P. mit Sand zerrieben + 25 ccm Wasser. Nach 2 Tagen wurde filtriert. Dieses Extrakt wirkte aber in einer Stunde noch nicht auf Fibrin.

Eine erhebliche Trypsinwirkung war also auf diesem Wege, wenigstens an diesem Katzenpankreas, auch nicht zu erzielen.

Wenn man dagegen weniger Extraktionsmittel nahm, wurde auch bei sofort angewandter alkalischer Lösung ein besser wirkendes Extrakt erzielt, während eine vorherige Behandlung mit Salicylsäure zu keinem anderen Resultat führte:

Versuch 12.

7.4 g frisches K. P. mit Sand zerrieben, mit 20 ccm 0.25%igem Bicarbonat extrahiert. Am 3. Tage filtriert. Dieses Filtrat wirkte am 7. Tage so, daß sich nach einer Stunde an einer Fibrinflocke Anzeichen von Zerfall zeigten und dieselbe in 5 Stunden gelöst war.

Versuch 13.

3.55 g frisches P. E. zerrieben + 10 ccm Salicylsäure 1%₁₀₀ angesetzt, am 6. Tage filtriert und alkalisch gemacht, wirkte genau so wie das oben erwähnte Extrakt.

Beim nächsten Versuch wurde ein anderes Pepton angewandt, nämlich Pepton c, mit Pepsin und Trypsin behandelte Wittesche Albumose, bei dem, wenn man vielleicht auch kein

Antipepton im Sinne Kühnes annehmen darf, doch zweifellos existierende leichter spaltbare Peptonanteile zerstört sein mußten.

Versuch 14.

4,24 g K. P. wurden morgens einer eben getöteten Katze entnommen. Die Drüse blieb bis nachmittags auf Eis, wurde nun mit Sand zerrieben und mit 40 ccm 0,25% igem Bicarbonat übergossen. Am 2. Tag wurde abgepreßt und filtriert.

Am 4. Tag wurde angesetzt:

1. P. E. allein.
2. P. E. + Pepton c (10 : 5).
3. Probe von 1 + gekochtes Fibrin.
4. Probe von 2 + gekochtes Fibrin.

Das P. E. selbst gab in diesem Falle nach Koagulation keine B. R.

Am 6. Tage (2. Tag nach dem Ansetzen) war in 3 und 4 das gekochte Fibrin bis auf geringe Reste gelöst, die aber bei weiterer Digestion nicht vollständig verschwanden. Die B. R. hatte zu dieser Zeit nicht wesentlich abgenommen. Nach weiteren 7 Tagen Digestion war aber ein großer Unterschied gegen 1 + frischem Pepton zu konstatieren, bei 6 Tropfen Kupfersalzlösung war letztere Probe schön purpur, das Digerierte ging sehr zu Violett. Bei 10 Tropfen ging das frisch zusammengegossene eben zu Violett, das Digerierte war blaufiolett und dabei schwärzlich.

Hier hatte also ein Katzenpankreasextrakt, das erst am 2. Tage filtriert und erst am 4. Tage angesetzt war, zwar in kurzer Zeit wenig, nach längerer Zeit aber doch recht stark auf Pepton gewirkt, das vorher schon einer pankreatischen Verdauung unterworfen worden war. Das Extrakt hat auch tryptisch gewirkt, aber doch nicht gerade sehr energisch: denn wenn auch diesmal gekochtes Fibrin angewandt wurde, so wurde dies doch nicht ganz gelöst, was ein gut wirkendes Pankreasextrakt in weniger als 24 Stunden leicht zu Wege bringt.

Da alle bisher beobachtete tryptische Wirkung des Katzenpankreas doch recht gering war, auch die, wo das Extrakt wie in Versuch 12 konzentrierter war, sollte ein solches konzentrierteres Extrakt hergestellt werden, von dem ich dachte, bei schwacher fibrinlösender Wirkung vielleicht eine sehr vollkommene auch auf größere Peptonmengen zu erhalten. Das Resultat dieses Versuches war ein auffallendes:

Versuch 15.

6,96 g frisches K. P. wurden mit Sand zerrieben und 40 ccm 0,5%iger Bicarbonatlösung zugefügt, die außerdem 0,5% Kochsalz enthielt (diese Lösung werde ich künftig kurz als alkalische Kochsalzlösung bezeichnen).

Am folgenden Tage wurden 7,1 g frisches K. P. zerrieben und dem Infuse vom Tage vorher (ohne weitere Flüssigkeit) zugefügt. Nach 3 Tagen wurde filtriert. Dies Filtrat wirkte erstaunlich gut auf Fibrin. Eine Flocke zeigte in 5 Min. ziemlichen Zerfall; nach 10 Min. waren nur noch kleine Reste vorhanden, nach 20 Min. alles gelöst. Nach 2 weiteren Tagen wurde der Versuch mit dem gleichen Erfolg wiederholt.

Hier waren zwei Katzenpankreas zum Extrakt verwendet worden und ich erinnerte mich dabei, daß Vernon der Ansicht ist, daß ein Pankreas auf das andere kinetisch wirke. Zwei zusammengewogene Extraktreste hatten zwar keine besondere tryptische Wirkung, der Versuch war aber genauer zu machen.

Versuch 16.

Es standen mir zu gleicher Zeit zwei frische Katzenpankreas zu Gebote, a und b.

Beide wurden zerrieben und von a und b gleiche Teile vereinigt. Dann wurde 1. a und b, 2. Rest von a, 3. Rest von b, jedes mit der dreifachen Menge alkalischer Kochsalzlösung übergossen.

Am folgenden Tage wurden die 3 Extrakte filtriert. Am 3. Tage wurden sie auf ihre Wirkung auf Fibrin geprüft. In allen 3 war die Wirkung mäßig, aber in 2 und 3 ganz gleich, 1 blieb nur ganz wenig in der Wirkung zurück. Im ganzen wirkten sie so, daß nach 20 Min. die Flocke deutlichen Zerfall zeigte, nach 40 Min. kleine Reste übrig waren, nach einer Stunde und 10 Min. das Fibrin in 2 u. 3 gelöst war, während in 1 noch geringe Reste vorhanden waren.

Eine Einwirkung von einem Katzenpankreas auf das andere war also in diesem genau angestellten Versuch nicht zu konstatieren. Da das Gemisch ungefähr die gleiche Konzentration hatte wie das in Versuch 15, ist also die dort beobachtete starke tryptische Wirkung auf andere Ursachen zurückzuführen. Auch die ziemlich gute tryptische Wirkung des folgenden Versuches, bei dem auch 2 Pankreas angewandt wurden, kann nicht diesen Grund haben, zeigt aber, daß konzentriertere Extrakte öfter diese Eigenschaft besitzen.

Versuch 17.

2 frische K. P. von 6,74 und 7,6 g wurden zerschnitten und mit je 20 ccm alkalischer Kochsalzlösung angesetzt. Am folgenden Tag wurden

beide Infuse vereinigt und koliert: 35 ccm davon mit alkalischer Kochsalzlösung auf 50 ccm aufgefüllt, so daß das Verhältnis von Pankreas zu Extraktionsflüssigkeit etwa wie 1 : 4 war. Mit diesem Extrakte wurden 2 Reihen von Versuchen angestellt:

a) bei 40° C.:

1. P. E. allein.
2. P. E. + Pepton c (12 : 3).
3. Probe von 2 + Fibrin.

b) bei Zimmertemperatur:

- 1., 2. u. 3. alles wie bei a).

Nach einigen Stunden war das Fibrin in a) 3 gelöst, in b) 3 nicht angegriffen. Ein Schwächerwerden der B. R. war nicht bemerkbar. Nach 7 Tagen war die B. R. in a) 2 noch ziemlich gut; dann wurde wieder untersucht nach weiteren 6 Tagen: Bei Koagulation gab nun a) 2 nur noch eine Spur Trübung, die B. R. war so gut wie geschwunden. Bei 3 Tropfen Kupferlösung trat noch ein bald verschwindendes blasses Rosa auf; schon bei 6 Tropfen war keine rötliche Nuance mehr zu erkennen, aber eine schwärzliche. b) 2 gab bei Koagulieren eine etwas stärkere Trübung, die B. R. war noch deutlich, verfärbte sich aber nach einiger Zeit schmutzig.

Nach weiteren 15 Tagen (in denen die Proben beide bei Zimmertemperatur gestanden hatten), wurde nochmals untersucht. Nun war in a) 2 gar keine Biuretreaktion mehr zu erkennen, in b) 2 war sie sehr zweifelhaft.

Wir haben hier ein Pankreasextrakt von ziemlicher Konzentration und mäßiger tryptischer Wirkung (gute Pankreasextrakte lösen auch bei Zimmertemperatur rohes Fibrin viel rascher). Die Wirkung auf Pepton c ist nicht rasch, aber nach längerer Zeit vollständig.

Versuch 18.

7,13 g frisches K. P. + 50 ccm alkalische Kochsalzlösung. Nach einigen Stunden koliert und angesetzt:

1. P. E. allein.
2. P. E. + Pepton c (25 : 5).
3. Probe von 2. + Fibrin.
4. Probe von 2, gekocht + Fibrin.

Am folgenden Tag war das Fibrin in 4 unverändert, in 3 gelöst. Ein Schwächerwerden der B. R. war in 2 nicht zu erkennen, in 1 dagegen zeigte sich höchstens eine Spur von B. R. Nach weiteren 2 Tagen war aber der Unterschied zwischen Digeriertem und frisch Zusammengepressem sehr groß. Das erstere wurde schon bei 3 Tropfen Kupferlösung mehr lila, das frische rosa; bei 6 Tropfen war das Digerierte schon fast rein blau.

Dieses Katzenpankreasextrakt war tryptisch wirksam, seine peptonspaltende Kraft war nach einem Tag bei 40° noch nicht zu erkennen, aber in der doch recht kurzen Zeit von 3 Tagen nahezu vollständig.

Versuch 19.

4.37 g frisches K. P. + 50 ccm alkalische Kochsalzlösung. Nach einigen Stunden koliert und angesetzt:

1. P. E. allein.
2. P. E. + Pepton d (20:4).
3. Probe von 1 + frisches Fibrin.
4. Probe von 2 + frisches Fibrin.

Am folgenden Tag ist das Fibrin in 3 und 4 gelöst. Nach 4 Tagen Digestion war in 2 eine sehr deutliche Verringerung der B. R. bemerkbar. Die Digestion bei 40° C. wurde noch 7 Tage fortgesetzt, und von da an stand das Gemisch bei Zimmertemperatur. Nach weiteren 12 Tagen wurde nochmals untersucht. Nun war die B. R. äußerst zweifelhaft und nach abermals 10 Tagen überhaupt nicht mehr zu erkennen.

Am 4. Tag der Digestion von 2 wurde eine Probe des Gemisches mit Fibrin und eine gekochte Kontrollprobe ebenfalls mit Fibrin in den Wärmeschrank gestellt. Am folgenden Tage war das Fibrin in der ersten Probe gelöst, in der Kontrollprobe unverändert.

An diesem Pankreasextrakt ist bemerkenswert, daß auch ein ziemlich verdünntes und in kurzer Zeit bereitetes Extrakt auch ohne Zusatz von Pepton fibrinlösend wirken kann. Die peptonspaltende Wirkung zeigte sich bald, wurde aber erst nach längerer Zeit vollständig. Da inzwischen Trypsin zerstört sein und in den späteren Stadien vielleicht eine reine ereptische Wirkung konstatiert werden konnte, wurde am 4. Tag der Digestion der 2. Versuch mit Fibrin gemacht. Aber nach 4tägigem Stehen bei 40° C. war in dem Extrakt die tryptische Wirkung noch nicht aufgehoben. Hervorzuheben ist endlich, daß bei diesem Versuch wieder ein anders Pepton angewandt wurde, nämlich durch kurze Pankreasverdauung sehr rein gewonnenes Fibrinpepton.

Beim folgenden Versuch wurde nochmals ein wässriges Extrakt aus einem Katzenpankreas gemacht:

Versuch 20.

Es wurden 3,4 g frisches K. P. mit 25 ccm Wasser extrahiert. Nach 3 Tagen wurde filtriert und die Wirkung auf Fibrin geprüft. Nach 2 Stunden

war die Flocke noch nicht angegriffen, aber auch über Nacht nicht. Dennoch enthielt das Pankreas Zymogen, denn nach Zusatz von etwas Darmextrakt der gleichen Katze trat an dem Fibrin nach 1¹/₄ Stunden Zerfall ein und am folgenden Tag war die Flocke gelöst.

Das Filtrat des K. P. E. wurde am 3. Tag nach dem Filtrieren angesetzt:

1. P. E. allein.
2. P. E. + Pepton d (15 : 3).
3. Probe von 2. + Fibrin.

Am folgenden Tag war das Fibrin bis auf geringe Reste gelöst. Nach 5 Tagen Digestion war die B. R. in 2 recht schwach. Das Gemisch wurde noch 20 Tage weiter bei 40° C. digeriert und stand dann noch 3 Tage bei Zimmertemperatur. Nun wurde nochmals untersucht. Bei Zusatz von 3 Tropfen Kupferlösung zeigte sich noch eine Spur rötlicher Farbe, dann aber, bei 6 Tropfen, war die Farbe nur grünlich-schwärzlich. Aber auch hier wurde frisch zugesetztes Pepton und zwar weniger, sehr gut erkannt. Es wurde nämlich zu einer Probe etwas neues Pepton, aber nur ¹/₄ so viel, als ursprünglich verwendet worden war, zugesetzt. Nun war die B. R. bei 3 Tropfen Kupferlösung schön purpur, bei 6 Tropfen neigte sie etwas zu lila.

Am 24. Tage der Digestion bei 40° C. war zu einer Probe von 1 auch Pepton d zugesetzt worden und zwar im Verhältnis von 7 : 1,5 und eine Probe davon + Fibrin und beide warm gestellt. Am folgenden Tage zeigte das Fibrin nur Spuren von Zerfall; nach weiteren 24 Stunden war es bis auf geringe Reste gelöst. Eine irgendwie erhebliche Abnahme der B. R. in dem mit Pepton Digerierten war auch nach weiteren 14 Tagen Digestion nicht zu konstatieren.

Hier hatte also ein wässriges Katzenpankreasextrakt (allerdings ziemlich verdünnt) auf Fibrin keine Wirkung gehabt, wohl aber nach Zusatz von Darmextrakt, aber auch von Pepton d. Eine deutliche Wirkung auf Fibrinpepton trat ziemlich bald ein und dasselbe wurde langsam weiter zerlegt, zuletzt fast vollständig. Nach 24 tägiger Digestion bei 40° C. hatte das Pankreasextrakt noch ganz schwache fibrinlösende Wirkung: eine etwas größere Menge Pepton war es nicht mehr zu zersetzen imstande. Die ereptische Kraft wird also bei dieser Behandlung jedenfalls stark verringert.

Zusammenfassung der Katzenpankreasversuche.

Überblickt man diese Versuche, so fällt die große Mannigfaltigkeit der Ergebnisse auf. Die fibrinlösende Wirkung

zeigt große Unterschiede. Die Bedingungen, unter denen die Extrakte gemacht wurden, waren allerdings vielfach verschieden, aber auch bei sehr gleich angestellten Versuchen zeigten sich diese Unterschiede. So waren die Extrakte in Versuch 3 und 19 beide mit den gleichen Mengen alkalischer Kochsalzlösung gemacht und beide bald auf ihre fibrinlösende Wirkung geprüft. Extrakt 3 griff eine Fibrinflocke über Nacht im Wärmeschrank trotz Zusatz von Pepton nicht an, während Extrakt 19 eine solche mit und ohne Pepton zur Lösung brachte.

Ich kann die Beobachtung Cohnheims bestätigen, daß rasch gemachte Extrakte direkt untersucht häufiger auf Fibrin wirkungslos oder doch von geringer Wirkung sind. Öfters aber wirken auch kurz bereitete alkalische Extrakte schon tryptisch, und dies zeigt sich namentlich, wenn die Extrakte konzentrierter sind. Sehr bedeutend ist deren tryptische Wirkung jedoch auch nicht. Merkwürdig ist, daß auch wässrige Extrakte eine recht mäßige tryptische Wirkung haben können, trotzdem daß sie länger extrahiert waren; und ebenso sind länger mit Alkalien bereitete Extrakte manchmal tryptisch recht wenig wirksam (z. B. Vers. 6), in andern Fällen sind solche Extrakte aber von auffallend guter tryptischer Wirkung (Vers. 15).

Wenn aber auch viele Extrakte direkt nicht oder wenig fibrinlösend wirken, so ist mir doch kein Katzenpankreas vorgekommen, aus dem nicht in irgend einer Weise Trypsin zu gewinnen gewesen wäre. Manchmal handelt es sich dabei sicher um die Spaltung von Zymogen, wie die Heidenhainsche Behandlung in Versuch 1 zeigt, oder der Zusatz von Darmextrakt, das in Versuch 20 eine wesentliche Besserung bewirkte bei einem wässrigen Extrakte, in dem also auch Zymogen vorhanden sein kann. Daß aber der Gehalt daran in Katzenpankreas kein besonders großer zu sein braucht, zeigt eben dieser Versuch, da die tryptische Wirkung auch nach dieser Behandlung noch keineswegs als sehr stark bezeichnet werden kann.

Die ereptische Wirkung des Katzenpankreas ist auch sehr verschieden. Nach 24 Stunden war sie zwar nie so vollkommen, daß man auf eine solche hätte mit Sicherheit schließen können. Aber auch hier zeigte sich, daß dieses Prinzip lang-

sam weiter wirkt und nach längerer Zeit jene vollständige Zerlegung von Pepton bewirken kann, die das Kriterium für diese Wirkung ist.

Extrakte, die erst nach längerer Zeit geprüft wurden, wirkten meist wenig ereptisch und Versuch 1, wo früher und später geprüft wurde, zeigt, daß es sich hier um eine Abnahme der ursprünglichen Wirkung handeln kann. Es fragt sich aber, ob dies immer so zu deuten ist, denn auch frische Extrakte sind oft recht wenig wirksam. Der Fall, wo ein Infus sofort mit den Pankreasstücken und Pepton angesetzt war, ist wegen eventueller Wirkung von Antiferment nicht eindeutig.

Wie verhält sich aber das Verhältniss von tryptischer und ereptischer Wirkung? In manchen Fällen hat es den Anschein, als ob hier ein gewisser Parallelismus bestehe, so wirkten einige gering tryptisch wirkende Extrakte auch wenig ereptisch (Vers. 6 u. 7). Aber die Wirkung kann nach beiden Seiten hin verschoben sein. So war in Versuch 4 bei vorhandener tryptischer Wirkung keine ereptische zu konstatieren. Dies Extrakt war erst am 2. Tage geprüft worden und man kann nicht wissen, ob es am ersten nicht ereptisch gewirkt hätte, es kommt aber hier wieder nur darauf an, daß unter Umständen, einerlei unter welchen, die beiden Wirkungen differieren können.

Auch bei dem Katzenpankreas hatte ein mit Alkohol und Äther behandeltes keine ereptische Wirkung bei allerdings auch nur geringer tryptischer (Vers. 2) und ein Extrakt, das längere Zeit bei 40° C. gestanden hatte, verhielt sich ebenso (Versuch 20).

Zugunsten der ereptischen Wirkung ist der Versuch 1 verschoben. Hier war aber Zymogen vorhanden. Es wäre nicht undenkbar, daß dieses keine tryptischen, wohl aber ereptische Wirkungen ausübte. Aber es scheint, daß das Zymogen schon durch Pepton gespalten wird, so daß sich im Verlauf dieser Versuche Trypsin bilden kann.

Noch mehr für diese Art der Verschiebung spricht Versuch 3. Hier war auch in dem peptonhaltigen Gemisch eine Fibrinflocke über Nacht nicht gelöst worden, während sich schon eine deutliche Wirkung auf Pepton zeigte. Hier war ein anderes Pepton genommen als in Versuch 1 und die kinetische

Wirkung ist vielleicht für verschiedene Peptone verschieden. Es ist aber auch hier ohne Belang, aus welcher Ursache die Lösung tryptisch unwirksam war. Die ereptische Wirkung war keine vollkommene: wenn aber wirklich Trypsin ausgeschlossen ist, so ist jede Peptonspaltung, selbst wenn sie etwa nur Hemipepton betroffen hätte, auf Erepsin zu beziehen. Ganz ausgeschlossen war aber das Trypsin auch hier nicht. Eine Ammonsulfatfällung des Extraktes wirkte tryptisch. Allerdings war diese erst am folgenden Tag gemacht worden, wo sich schon Trypsin gebildet haben konnte. Aber auch die Fibrinflocke, die nur zur Zeit des Versuchs sich in dem Gemisch befand, zeigte am Tag darauf Zerfall. Immerhin kann es sich nur um Spuren von Trypsin handeln, und wenn man bedenkt, daß besser tryptisch wirkende Lösungen weniger ereptisch wirken können, ist die Verschiebung zugunsten der ereptischen Wirkung hier doch wohl unzweifelhaft.

Beobachtungen an Erstprodukten der Pankreasverdauung.

Wir haben bisher die Eigenschaften der Pankreasextrakte besprochen, Fibrin zu lösen und Pepton zu zersetzen. Wir müssen uns nun noch einigen anderen Produkten der Pankreasverdauung zuwenden, teils weil sie an und für sich interessant sind, teils weil die Art ihres Auftretens in die uns hier interessierende Frage nach den Pankreasenzymen eingreift.

Pankreasextrakte lösen zunächst Fibrin auf, bilden aber sehr bald unkoagulable Körper daraus. Wenn man ein Pankreasextrakt hat, das an und für sich keine Biuretreaktion gibt, und löst darin eine Flocke Fibrin, so erhält man sofort nach Lösung der Flocke beim Koagulieren meist noch ein reichliches Koagulum, im Filtrat davon zeigt aber eine oft recht deutliche Biuretreaktion an, daß jetzt schon solche Körper vorhanden sind. Bei gut wirkenden Extrakten verschwindet aber das koagulable Eiweiß recht bald und es findet sich vorwiegend echtes Pepton in Lösung. Dies ist z. B. bei dem S. 141 unter c) beschriebenen Versuch der Fall gewesen.

Eine Probe dieses Pankreasextraktes war 2 Tage, nachdem die Drüsen mit Wasser bei Zimmertemperatur gestanden

hatten, filtriert worden. Es gab zu dieser Zeit beim Koagulieren ein starkes Koagulum und das Filtrat davon intensive Biuretreaktion. Sättigung mit Ammonsulfat gab in dem Filtrat eine geringe Trübung, die sich später zu einem geringen, flockigen, nicht klebenden Niederschlag zusammenzog. Also schon bei Zimmertemperatur war hier in kurzer Zeit wesentlich echtes Pepton gebildet. Das Extrakt wirkte gut auf Fibrin: 3 Min.: st. Z: 5 Min.: kl. R: 12 Min.: gelöst. In eine Probe dieses Extraktes wurde reichlich Fibrin gebracht und warm gestellt. Wie oben beschrieben, gab das Gemisch am folgenden Tag nur ein geringes Koagulum, das Filtrat davon starke Biuretreaktion: beim Sättigen mit Ammonsulfat nur sehr geringe Trübung. Es war also über Nacht bei 40° C. auch das Fibrin in Pepton verwandelt worden und zudem noch der koagulable Körper des Extraktes, der Tags zuvor noch vorhanden war. Ich habe früher angegeben,¹⁾ daß sich dieser koagulable Körper, wenigstens eine geringe Menge desselben, sehr hartnäckig auch bei längerer Digestion in der Wärme erhalte: ich habe ihn jetzt häufiger aber auch ganz schwinden gesehen.

Interessant ist in dieser Beziehung auch der oben S. 152 erwähnte Versuch, wo Fibrin, das mit Trypsin beladen war, schon nach einigen Stunden zu einer Lösung geworden war, die nur ein geringes Koagulum, starke Biuretreaktion, aber keine Ammonsulfatsättigungsfällung gab.

Weiter muß hervorgehoben werden, daß auch Präparatlösungen diesen koagulablen Körper bald bewältigen können. Von dem S. 146 u. geschilderten Präparate war eine schwach alkalische Lösung hergestellt worden, die allerdings etwas mehr des Präparates enthielt, als dem Pankreasextrakt entsprechen hätte, und mit reichlich Fibrin beschickt worden. Das Gemisch blieb nur 2 Stunden bei 40° C. stehen, wobei es zu einer dünnen trüben Flüssigkeit geworden war, und dann 3 Tage bei Zimmertemperatur. Auch hier gab Koagulation nur ein ganz geringes Koagulum und das Filtrat davon gute Biuretreaktion.

Von sehr gut wirkenden Pankreasextrakten wird also gelöstes Eiweiß bald in Pepton verwandelt, dieses aber dann

¹⁾ l. c. S. 492.

häufig auch rasch weiter zersetzt. Ich verweise auch hier wieder auf Kutschers Erfahrungen und meinen bestätigenden Versuch.

Nimmt man aber weniger wirksame Extrakte, sei es, daß man sie mit Wasser verdünnt, oder solche anwendet, die bei längerem Stehen schon einen Teil ihrer Wirkung eingebüßt haben, so kann man auch nach tagelanger Digestion bei 40° C. noch diesen koagulablen Körper finden und dann kann man bei guter Biuretreaktion im Filtrat nicht unbedeutende Fällungen mit Ammonsulfat erhalten, wobei es sich offenbar um Albumosen handelt. Hier kann der koagulable Körper aus dem Extrakte stammen; ich habe aber schon in meiner angeführten Arbeit erwähnt, daß auch Präparatlösungen unter Umständen, wo das Trypsin langsamer wirke, nämlich bei Zimmertemperatur diesen Körper lange nicht bewältigen, während sie ihn bei 40° C. leicht weiter zersetzen, und kann diese Beobachtungen jetzt wieder bestätigen.

Bei diesen Versuchen ist ein gewisser Parallelismus zwischen fibrinlösender und weiter zersetzender Wirkung nicht zu verkennen: denn die Bezeichnung der Extrakte als «gut oder weniger gut wirkende» stützt sich eben auf die Schnelligkeit der Lösung von Fibrin. Es kommt aber auch vor, daß bei Anwendung von in diesem Sinne gut wirkenden Präparaten sich zu einer Zeit noch reichliche Mengen nur gelöster Körper finden, in welcher damit vergleichbare Lösungen schon eine weitere Zersetzung zustande gebracht haben.

Das S. 149 erwähnte Präparatextrakt, das in so langer Zeit Pepton nicht bewältigte, obwohl es Fibrin sehr rasch löste, hatte nämlich auch die eben geschilderten Eigenschaften.

Ich habe in der beigegebenen Tabelle drei Verdauungsversuche angeführt: a) ist das S. 142 erwähnte Pankreasextrakt, nachdem es 4 Monate gestanden hatte, und stellt den Anfang des ebenda unter d) erwähnten Versuches dar: b) ist eine Lösung des aus diesem Pankreasextrakt schon bald durch Sättigung mit Ammonsulfat gewonnenen, S. 146 u. erwähnten Präparats und c) eine Lösung des aus dem gleichen Pankreasextrakt in der S. 149 geschilderten Weise hergestellten Prä-

parates. Bei b) und c) waren die Präparate in einem Verhältnis, das dem Extrakte entsprach, in 2%iger Kochsalzlösung gelöst.

a)	b)	c)
Pankreasextrakt	Präparat durch Ammonsulfat-sättigung erhalten	Alkohol. Essig-säure-Extrakt aus Präparat b)
Wirkt 6. V. 04: 5 Min.: deutl. Z.; 10 > : mäß. R.; 15 > : kl. R.	—	Wirkt 10. V. 04: 3 Min.: deutl. Z.; 5 > : mäß. R.; 10 > : sehr ger. R.; 15 > : minimalste R.
9. V. Mit Fibrin beschickt	11. V. Mit Fibrin beschickt	10. V. Mit Fibrin beschickt
10. V. Essigsäure: kaum Trübung. Gekocht: mäßiges Koagulum	13. V. Essigsäure: schwache Trübung. Gekocht: etwas Koagulum	11. V. Gekocht: Reichliches Koagulum. Im Filtrat davon: Essigsäure: reichlicher Niederschlag
11. V. Viel Tyrosin aus- geschieden	13. V. Viel Tyrosin aus- geschieden	13. V. Kein Tyrosin aus- geschieden. 1 Tropfen auf Objektträger ein- gedampft; mikrosko- pisch: kein Tyrosin, wenig Leucin.
Wirkt 10. V. 10 Min.: ?; 15 > : bg. Z.; 20 > : st. Z.; 40 > : kl. R.	Wirkt 13. V. 10 Min.: 0; 20 > : zieml. Z.; 40 > : ger. R.	Wirkt 11. V. 10 Min.: bg. Z.; 20 > : sehr st. Z.; 30 > : > ger. R.; 40 > : gelöst.

Von allen 3 Proben wurden gleiche Mengen genommen und gleiche Mengen Fibrin verwendet. Alle 3 Lösungen hatten, wie wir gesehen haben, eine nicht sehr große ereptische Wirkung, indem sie das aus dem Fibrin entstandene reichliche Pepton nicht bewältigten. Da sie aber in dieser Beziehung sich gleich verhielten, sind auch ihre Anfangswirkungen vergleichbar. a) und c) wirkten vor dem Versuch ziemlich gleich, c) eher etwas besser. Bei b) wurde hier darauf nicht geachtet; seine Wirkung ist aber sonst öfter bestimmt worden und ist etwas besser als die von a) und c) (vgl. S. 147), b) ist mit den andern beiden auch nicht streng vergleichbar, weil die Untersuchung auf die

Lösungsprodukte erst einen Tag später gemacht wurde. Es zeigt aber doch, daß auch hier sehr bald wenig genuines Eiweiß in Lösung war und reichlich Tyrosin ausgeschieden wurde. Ganz vergleichbar sind aber a) und c) und daraus ergibt sich, daß bei nahezu gleichbleibender, ja eher zugunsten von c) auffallender, lösender Wirkung vor und nach dem Versuch ein älteres Extrakt das gelöste Eiweiß zum größten Teil (nur mäßiges Koagulum) in unkoagulierbare Körper weiter zerlegt, während eine aus demselben Extrakt durch Extraktion eines daraus durch Ammonsulfatsättigung gewonnenen Präparates mit verdünntem Alkohol und Essigsäure, Ausfällen dieser Lösung mit mehr Alkohol und Wiederlösung des dabei entstandenen Niederschlages erhaltene Lösung, in der gleichen Zeit noch reichlich koagulables Eiweiß und einen durch Essigsäure fällbaren Körper lieferte. Wir haben also hier eine analoge Verschiebung zwischen lösender Wirkung und Weiterzersetzung der ersten Lösungsprodukte wie bisher zwischen lösender und peptonzersetzender Wirkung.

Bei c) war es auch auffallend, daß nicht einmal nach dem Eindampfen Tyrosin zu finden war, während sich solches bei a) und b) in reichlicher Menge spontan ausschied. Die Ausscheidung von Tyrosin scheint aber von vielen noch unbekanntem Bedingungen abzuhängen. Ich kenne kaum eine Lösung, aus der sich Tyrosin so leicht und reichlich ausscheidet als aus einem nach Kühne aus Trockenpankreas dargestellten Extrakt: dagegen war, wie ich gezeigt habe, bei einem kalt bereiteten wässrigen Extrakte die Tyrosinausscheidung und auch -Bildung gering, während sie, wenn Fibrin zugegeben wurde, sehr reichlich war.¹⁾ Auch kann man in ganz gleich bereiteten Verdauungsgemischen und unter gleichen Bedingungen einmal eine Tyrosinausscheidung sehen, ein andermal nicht. Auch der mikroskopische Befund ist nicht ganz maßgebend, da noch vorhandene Eiweißkörper, die zuletzt zu glasigen Massen eintrocknen, die Ausscheidung der krystallinischen Zersetzungsprodukte hindern können.

Aber die Versuche wurden noch weiter geführt, indem

¹⁾ l. c. S. 486, 488.

die 3 Gemische weiter digeriert wurden und am 20. Tage Stickstoffbestimmungen von b) und c) gemacht wurden, und zwar bei c) eine Kjeldahl-Bestimmung der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Anteile des Verdauungsgemisches und bei b) die Summe des bei der gleichen Bestimmung gefundenen N + dem aus dem ausgeschiedenen Tyrosin berechneten. Das Resultat ergab für b) eine größere N-Menge, für c) betrug sie 0,3066 g, für b) 0,4132 g.

In Anbetracht der guten lösenden Wirkung von c) und der wenigstens zu Anfang gering erscheinenden Bildung von Aminosäuren hatte ich daran gedacht, ob hier nicht etwa — wenn auch vielleicht noch nicht ganz rein — das von mir als möglich gedachte spezifische Enzym des Pankreas (vgl. S. 127), das überhaupt nur peptonisierend wirkte und auf das mir auch ein Versuch von Vernon hinzudeuten schien (vgl. S. 129 u.), isoliert wäre. Man mußte dann von dem Reste des Präparates, das durch Ammonsulfatsättigung erhalten war, nachdem es mit Alkohol und Essigsäure extrahiert war, erwarten, daß er nicht oder wenig lösend, dagegen gut peptonspaltend wirke. Dieser Präparatrest wurde in verdünnter Sodalösung gelöst, da er in Köchsalzlösung kaum löslich schien. Diese Lösung wirkte allerdings weniger rasch lösend auf Fibrin, aber immerhin noch recht gut. In einem Falle — der Versuch wurde öfter wiederholt — fand eine Tyrosinausscheidung statt, in einem anderen nicht. Der N-Gehalt war in dem durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Anteil etwas größer als bei c), er betrug 0,354 g. Merkwürdigerweise war aber, wie man sieht, dieser N-Gehalt der Verdauungen mit diesem Präparatrest und mit c) zusammengenommen größer als bei b), dem Präparate, das doch eben in c) und den Präparatrest zerlegt war. Wenn diese an dem Präparatrest gemachten Erfahrungen auch in mancher Beziehung die oben ausgesprochene Annahme des spezifischen Pankreasenzym zu stützen scheinen (etwas geringeres Lösungsvermögen und Tyrosinausscheidung), so enthalten sie doch auch zu viel Widersprechendes. Namentlich aber erfüllte dieser Präparatrest auch insofern nicht die Erwartungen, als er zugesetztes Pepton ebenso schwer bewältigte wie c).

Wie gesagt, finden sich bei weniger gut tryptisch wirkenden Lösungen häufiger, manchmal aber auch bei sehr gut wirkenden, im Anfang Eiweißkörper in Lösung, die sehr verschiedener Natur zu sein scheinen. Manchmal fallen sie schon bei Neutralisation des alkalischen Gemisches aus, häufiger erst beim Kochen. Ich habe in meiner früheren Arbeit schon zwei erwähnt,¹⁾ die ich jetzt wiedergefunden habe: Einmal zeigte ein solches Gemisch, in Wasser getropft, eine Trübung, bei Einleitung von Kohlensäure starke Fällung. Sättigung mit Kochsalz bewirkte auch einen Niederschlag, sodaß man den Körper als Globulin aufzufassen hat. In einem andern Falle wurde ein Tropfen eines Verdauungsgemisches beim Eintropfen in destilliertes Wasser sehr stark getrübt, ebenso aber auch in Salzsäure von 2⁰/₀₀: die stark getrühten Tropfen fielen zu Boden und lösten sich dort bald wieder auf. Das Verdauungsgemisch lieferte schon unter 60⁰ C. ein starkes Koagulum, kurz dieser Körper verhielt sich ganz wie Myosin. Ich habe an dem erwähnten Orte die Ansicht ausgesprochen, daß dieser Körper aus den Drüsenzellen des dort angewandten Pankreas stamme, hier aber konnte dies nicht der Fall sein: denn er war mit einem jener Alkoholniederschläge erhalten, der in dem Alkoholesigsäure-Extrakte des Ammonsulfatpräparates entsteht, welche an Masse so gering sind, daß man sie kaum auf dem Filter sieht.

Aus der obigen Tabelle S. 177 ersieht man, daß nach Koagulation ein Körper sich in Lösung befinden kann, der durch Zusatz von mehr Essigsäure ausfällt. Dieser Körper ist einer näheren Besprechung wert. Wenn man Pankreasextrakte oder Präparatlösungen, in denen noch Eiweißkörper in Lösung sind, auf etwa 1⁰/₀ Eisessig bringt, so entsteht oft eine Trübung oder ein starker Niederschlag. Auch nachdem man solche Lösungen bei alkalischer oder neutraler Reaktion zum Kochen erhitzt und filtriert hat, entsteht bei stärkerem Ansäuern mit Essigsäure diese Fällung. Im Überschuß von Essigsäure ist sie löslich. Wenn so viel Essigsäure vorhanden ist, daß ein Niederschlag besteht, löst sich derselbe beim Kochen auf, kehrt aber beim

¹⁾ l. c. S. 485, 487.

Erkalten wieder. Wird aber von vornherein in ganz schwach saurer Lösung erhitzt, wo noch kein Niederschlag sich gebildet hat, so gibt im Filtrat Essigsäure keine Fällung mehr: der Körper ist also in schwach saurer Lösung koagulabel. Bei Pankreasextrakten kann eine Essigsäurefällung, wie schon bemerkt, auf Nucleinsäure zu beziehen sein (S. 149): hier habe ich den Körper aber wieder mit jenem geringmassigen Präparate erhalten, und er muß deshalb aus dem Fibrin stammen. Ob das Kühnesche Leukoid nicht doch etwas Ähnliches ist und wie sich der Körper zu dessen Aeroalbumose¹⁾ verhält, wage ich noch nicht zu entscheiden. Die Koagulation einer Albumose wäre nicht ohne Beispiel, da Kühne und Chittenden²⁾ etwas Ähnliches für die Heteroalbumose gefunden haben.

Vielleicht handelt es sich hier um Zwischenstufen zwischen Eiweiß und Albumose. Einen Körper, der hierher gehören mag, hat einmal P. Fürbringer³⁾ im menschlichen Harn beschrieben: derselbe koagulierte in dem durch saure Salze sauern Harn nicht, wohl aber nach Zusatz von sehr wenig freier Essigsäure: dagegen trat in der Kälte keine Essigsäurefällung ein.

Der von mir beschriebene Körper hat auch deswegen Interesse, weil er sich bei scheinbar spontan gelöstem Fibrin in Lösung findet. Da dieser eigentümliche Eiweißkörper sich nach den eben besprochenen Erfahrungen als ein frühes Resultat enzymatischer Wirkung gezeigt hat, gewinnt die Annahme, daß jene Lösung des Fibrins (vgl. S. 138) auch enzymatischer Natur sei, an Wahrscheinlichkeit.

Schlußbetrachtungen.

Die Frage, ob das Trypsin auch ereptische Eigenschaften habe, oder ob für die zweifellos bestehende ereptische Wirkung der Pankreasextrakte ein Erepsin gefordert werden müßte, kann nur dann einer definitiven Entscheidung zugänglich sein, wenn die Wirkung der zwei Enzyme ganz getrennt demonstriert werden

¹⁾ Zeitschrift f. Biol., Bd. XXX, S. 231.

²⁾ Zeitschrift f. Biol., Bd. XX, S. 32 ff.

³⁾ Berl. klin. Wochenschrift 1878, Nr. 7.

kann, wobei dann auch erst über die eigentliche Natur des Trypsins zu entscheiden wäre.

Da diese Trennung nicht vollständig gelungen ist, muß man sich mit der wahrscheinlichen Entscheidung der Frage begnügen.

An Stelle der Isolierung der beiden Enzyme muß dann eine Verschiebung der beiden Wirkungen in dem einen oder dem andern Sinne treten, die aber nicht darin bestehen darf, daß nur ein zeitlicher Unterschied zwischen der fibrinlösenden Wirkung und der teilweisen Zerstörung des Peptons nachgewiesen werden kann. Diese kann nur dann verwertet werden, wenn die lösende Wirkung ausgeschlossen ist. Man könnte aber wohl aus dem zeitlichen Verlauf der vollständigen Peptonzersetzung auf die Menge von Erepsin schließen und diesen mit der lösenden Wirkung vergleichen, oder man kann aus dem Ausbleiben der vollständigen Peptonspaltung oder wenigstens der langen zeitlichen Verschiebung derselben den Mangel an Erepsin oder eine Anreicherung mit dem anderen Enzym konstatieren.

Bei meinen Versuchen mit Rindspankreas haben im allgemeinen alte Extrakte weniger gut tryptisch gewirkt als frische, obwohl die ereptische Wirkung, so wenig wie die tryptische, — auch bei sehr alten Extrakten — nie ganz aufgehoben war.

Da ich aber das gleiche Extrakt nicht in frischem und altem Zustande verglichen habe, wäre es möglich, daß die weniger wirkenden alten Extrakte von vornherein weniger ereptisch wirksam gewesen wären. Diese alten Extrakte haben ihre ereptische Wirkung nicht verloren, da sie Pepton auch schon bei herabgesetzter tryptischer Wirkung manchmal noch recht rasch zersetzen, sie sind aber trotz noch recht guter tryptischer Wirkung größere Mengen von Pepton, wie sie aus dem reichlich zugesetzten Fibrin entstehen, nicht zu bewältigen imstande. Es hat also hier, einerlei aus welcher Ursache, eine zweifellose Verschiebung zugunsten der tryptischen Wirkung stattgefunden.

Ein ähnliches Verhältnis wie bei diesen alten Pankreasextrakten scheint bei Lösungen von Präparaten zu bestehen,

die durch Aussalzen aus den Extrakten gewonnen sind. Auch diese können Peptone noch vollständig zerstören, im allgemeinen scheint auch ihre ereptische Wirkung etwas herabgesetzt zu sein. In einem Falle, wo die Nebenbedingungen gute zu sein schienen, nämlich wo das Präparat in gekochtem Extrakt gelöst war, war die Wirkung sehr rasch, sie war aber in dem nichtgekochten, also wirksamen Pankreasextrakt, obwohl dies schon durch längeres Stehen nicht unerheblich an tryptischer Kraft eingebüßt hatte, auffallend gleich mit der des tryptisch viel besser wirkenden Präparates, so daß hier ein deutlicher Aparallelismus der beiden Wirkungen vorliegt.

Wenn diese Präparate noch auf Pepton recht gut wirkten, so kann man aber aus ihnen wieder Extrakte gewinnen mit verdünntem Alkohol und Essigsäure, die bei anfänglich sehr guter und nach Beendigung des Versuches nicht aufgehobener, wenn auch geschwächer, tryptischer Wirkung auch in langer Zeit Pepton nicht bewältigen. Das gleiche findet sich bei Extrakten, die nach Kühnes Angaben aus seinem Trockenpankreas hergestellt sind, während das Extrakt aus den gleichen, frischen Drüsen nicht nur zugesetztes Pepton, sondern auch größere Mengen Fibrin bald in abiurete Produkte verwandelte.

Im allgemeinen war bei Rindspankreas unter verschiedenen Bedingungen eine deutliche Verschiebung nach der tryptischen Wirkung zu konstatieren. Das Umgekehrte wurde bei Katzenpankreas beobachtet; denn wenn auch hier die tryptische Wirkung nicht absolut ausgeschlossen werden konnte, so war doch bei einer minimalen solchen Wirkung, namentlich wenn man die Leichtlöslichkeit frischen Fibrins im Auge behält, eine erhebliche Wirkung auf Pepton vorhanden. Zugleich haben diese Versuche gezeigt, daß auch bei frischen Extrakten das Verhältnis von tryptischer und ereptischer Wirkung sehr verschieden sein kann.

Man kann also eine Verschiebung der tryptischen und tatsächlich ereptischen Eigenschaft des Pankreas konstatieren. Ist man aber deshalb berechtigt, zwei Enzyme anzunehmen? Vernon geht von der Voraussetzung aus, daß im Pankreas immer zwei Enzyme, Trypsin und Erepsin, vorkämen, und meint,

daß die zeitliche Verschiebung von Lösung und teilweiser Peptonzerstörung zu dieser Anschauung berechtigen, während diese doch ebensogut auf der Verzögerung einer Wirkungsphase eines Enzyms beruhen könnte, das gar keine wirklich ereptische Eigenschaft zu haben brauchte.

Wenn man auch nicht mehr an der Anschauung Kühnes von der hälftigen Zerlegung in Anti- und Hemipepton festhalten kann, so scheint doch ein Teil des Peptons schwerer zerstörbar zu sein. Mit dieser Einschränkung die Kühnesche Nomenklatur gebrauchend, hindert nichts, das Enzym des Pankreas theoretisch in vier zu zerlegen: 1. ein lösendes, 2. ein peptonisierendes, 3. ein Hemipepton zersetzendes, 4. ein Antipepton zersetzendes. Nimmt man meinen Versuch mit dem Alkohol-essigsäureextrakt aus dem mit Ammonsulfat erhaltenen Präparat in seinem ganzen Verlauf (S. 150, 177 (c)), so hätte hier für die nächstliegende Beurteilung 4 so gut wie ganz gefehlt und 2 wäre erheblich geschwächt gewesen, da mindestens ein Teil der Lösungsprodukte nur langsam weiter verwandelt wurde. Aber auch hierin dürfte man keinen Beweis der theoretisch angenommenen Existenz eines Enzyms 2 sehen, da es sich eben auch um die Schwächung einer Wirkungsphase eines Enzyms handeln könnte: ist dies aber der Fall, so ist der Versuch deswegen bedeutungsvoll, weil er zeigt, daß verschiedene Wirkungsphasen verzögert oder vernichtet sein können. Daß bis jetzt unerklärbare Wirkungshemmungen der Enzyme vorkommen können, zeigt die S. 179 angeführte Zerlegung eines Präparates in zwei, die zusammengenommen eher besser lösend wirkten, jedenfalls aber besser die Zersetzung eines Teiles des Peptons (N-Bestimmung des durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Teils) bewirkten als das Ausgangspräparat, während die Zersetzung eines anderen Teils des Peptons in beiden so gut wie aufgehoben war.

Wenn an der teilweisen Verschiebung der Wirkungen einer Verdauungslösung auch nichts auf die Existenz verschiedener Enzyme geschlossen werden darf, so ist doch der vollständige Verlust der einen oder anderen Wirkung, oder wenn ein solcher wenigstens nahezu erreicht wird, wohl anders

zu beurteilen. Hier wird man viel eher berechtigt sein, auf die Anwesenheit zweier Enzyme zu schließen, besonders wie in dem vorliegenden Falle, wo das eine derselben in isoliertem Zustande bekannt ist. Wenn Vernon auch einige Unterschiede zwischen dem Pankreas- und dem Darmerepsin gefunden haben will, so scheinen sie mir doch zu unbedeutend, um daraus wieder auf zwei verschiedene Enzyme zu schließen. Nach Vernon¹⁾ findet sich aber isoliertes Erepsin in den verschiedensten Organen, und daß überhaupt ein isoliertes Erepsin existiert, wird niemand mehr bezweifeln, nachdem Cohnheim²⁾ an einem Hunde, der 7 Tage die Exstirpation des Pankreas vorzüglich überlebt hatte, gezeigt hat, daß das Darmextrakt ereptisch, aber nicht fibrinlösend wirkte.

Indessen ist auch bei dem vollständigen unter gewissen Umständen beobachteten Fehlen einer Wirkung nicht mit Sicherheit auf zwei Enzyme zu schließen. Für diesen vollständigen Ausfall einer bestimmten Teilwirkung eines Enzyms sind auch die vielfach sehr skeptisch aufgenommenen Angaben Finklers³⁾ über das Isopepsin ein Beispiel, das durch die jetzigen Erfahrungen über die Verschiedenheiten der Pankreaswirkungen an Bedeutung gewinnt. Durch Eindampfen einer Pepsinlösung schon bei 40° (aber auch bei höheren Temperaturen bis zu 60 und 70° mit dem gleichen Erfolge) fand Finkler das Enzym so verändert, daß es koaguliertes Eierweiß zwar sehr gut löste und einen Teil auch peptonisierte (wobei damals allerdings die Albumosen noch nicht bekannt waren, so daß die Verdauung vielleicht auch bei diesen stehen blieb), sicher aber einen Teil der ersten Verdauungsprodukte, das Meißnersche Parapepton in keiner Weise weiter angriff, selbst wenn immer neues Enzym zugegeben wurde. Ich weiß nicht, ob Finkler selbst in dem Isopepsin einen abgetrennten Teil oder einen veränderten Zustand des Pepsins hat sehen wollen (er nennt es eine Modifikation). Jedenfalls ist die Frage auch hierfür diskutabel.

¹⁾ Journ. of Physiol., vol. XXXII, p. 33, 1904.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLVII, S. 286.

³⁾ Pflügers Archiv, Bd. XIV, S. 128.

Nun haben Pawlow und Parastschuk¹⁾ gezeigt, daß beim Magen, wo man bisher zwei Enzyme, Pepsin und Lab (oder Chymosin) angenommen hatte, ein scheinbar vollkommenes Fehlen der einen Wirkung, doch kein definitives zu sein braucht, daß eine Wirkung latent werden, aber durch eine scheinbar unbedeutende Procedur wieder manifest werden kann. Aber diese Beobachtung steht noch ganz vereinzelt da, und wäre für andere Enzyme erst zu beweisen. Sachs²⁾ hat, wie ich glaube, mit Recht trotz dieser Erfahrung von Pawlow und Parastschuk die Beurteilung der Nuclease als besonderes Enzym aufrecht erhalten. Wenn er aber meint, daß nach diesen Erfahrungen die Trennung zweier Enzyme ihre Beweiskraft eingebüßt habe, so kann ich dem nicht zustimmen. Sachs hat sich aber, wie mir scheint, nur in der Wahl des Wortes vergriffen, wenn er sagt, «wenn die Trennung gelungen ist, werden wir doch nie imstande sein, auszuschließen, daß es sich nur um eine scheinbare handelte. Denn wir können nicht wissen, ob alle Möglichkeiten erschöpft sind, die geeignet wären, um in der angeblich nur in einem Sinne wirksamen Fermentflüssigkeit die andere Wirkung wieder wach zu rufen». Dies ist mit dem Hinweis auf den Fall von Pawlow und Parastschuk gesagt. Dort handelt es sich aber eben nicht um eine Trennung zweier Enzyme, da gerade gezeigt wird, daß die von Hammarsten angenommene Trennung nur eine scheinbare gewesen sei, aber auch keine tatsächliche, sondern nur eine scheinbare Isolierung eines Enzyms vorgelegen habe. Für die scheinbare Isolierung eines Enzyms ist aber Sachs' Zweifel berechtigt. Dagegen wird, wenn es gelingt, aus einer Verdauungsflüssigkeit zwei Teile zu trennen, in deren jedem je eine Wirkung manifest ist, dies der einzig sichere Beweis für die Existenz zweier Enzyme sein, es sei denn, daß man die höchst unwahrscheinliche Annahme machte, daß dann ein Enzym in zwei Teile geteilt sein könne und in jedem je eine Eigenschaft latent geworden.

¹⁾ l. c.

²⁾ Ist die Nuclease mit dem Trypsin identisch? l. c.

Auf die Trennung der beiden Enzyme werden also bei dem Pankreas noch weitere Bestrebungen zu richten sein.

Wenn auch die Frage, ob den vielen in der Pankreasdrüse angenommenen Enzymen noch ein weiteres zuzufügen ist, von theoretischer Bedeutung ist, so ist doch für die praktische Biologie die Anwesenheit des Erepsins im Pankreas oder auch die eventuelle Fähigkeit des Trypsins selbst, diese weitgehende Zersetzung zustande zu bringen, von geringerer Wichtigkeit: denn abgesehen davon, daß wir in dieser Beziehung auch noch den Pankreassaft untersuchen müssen, bleibt doch die vollständige Peptonspaltung eine Luxuseigenschaft des Pankreas, da dieselbe in so vollkommenem Maße dem Erepsin des Darmes zufällt.