

Über verschiedenartige Hemmung der tryptischen Verdauung.

Von
S. G. Hedin.

(Aus dem physiologischen Institut in Heidelberg.)

(Der Redaktion zugegangen am 11. Juni 1907.)

Die Wirkung der Antikörper wird wohl jetzt allgemein in der Weise erklärt, daß der Antikörper sich mit dem entsprechenden Toxin resp. Enzym in irgend einer Weise verbindet. Wie ich in früheren Arbeiten gezeigt habe, kann die sehr starke antitryptische Wirksamkeit, die durch natives Serumalbumin ausgeübt wird, auch so gedeutet werden, daß das Serumalbumin oder irgend eine ihm anhaftende Substanz das Trypsin aufnimmt.¹⁾ Andererseits wird es nunmehr allgemein angenommen, daß diejenigen Substanzen, auf welche die Enzyme einwirken (die Substrate) sich zunächst mit den Enzymen verbinden, für welche Ansicht ich eine neue Stütze geschaffen habe, indem ich nachweisen konnte, daß durch Kohle adsorbiertes Trypsin sich durch Casein, aber nicht durch Wasser zum Teil ausziehen läßt.²⁾

Wenn also Serumalbumin, Casein und Trypsin vermischt werden, müssen der tryptische Antikörper im Serumalbumin und das Casein das Trypsin unter sich in irgend welcher Weise verteilen. Da das Serumalbumin praktisch unverdaulich ist, rührt die ganze Verdauung, die in der Mischung stattfindet, von der Verdauung des Casein-Trypsins her. Schon aus meinen bereits publizierten Versuchen geht hervor, daß die Reihenfolge, in welcher die drei Substanzen vermischt werden, einen sehr großen Einfluß auf die Verteilung des Trypsins ausübt.³⁾ Die geringste Verdauung wird erhalten d. h. die größte Menge

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. L, S. 497 (1907).

²⁾ Bio-Chemical Journ., Bd. II, S. 81 (1907).

³⁾ Journ. of Physiol., Bd. XXXII, S. 390 (1905).

Trypsin wird am Antikörper gebunden, wenn die Reihenfolge des Mischens Antikörper — Trypsin — Casein ist, und zwar wird bis zu einer gewissen Grenze desto mehr Trypsin neutralisiert, je länger und bei je höherer Temperatur die Antikörper-Trypsinmischung aufbewahrt wird, bevor das Casein zugegeben wird. Die stärkste Verdauung wird erhalten oder die geringste Menge Trypsin wird vom Antikörper aufgenommen, wenn die Reihenfolge Casein — Trypsin — Antikörper innegehalten wird, und zwar ist es für die Verteilung des Trypsins gleichgültig, ob das Casein-Trypsingemisch vor dem Zugeben des Antikörpers einige Zeit aufbewahrt wird oder nicht. Wenn das Casein-Trypsingemisch vor dem Zusatz des Antikörpers aufbewahrt wird, muß jedoch die gebrauchte Trypsinmenge so gering sein, daß vor dem Zugeben des Antikörpers keine merkbare Verdauung stattfindet.

Aus der eben erwähnten Arbeit zitiere ich die Ergebnisse einiger der Versuche, die sich auf den Einfluß der Reihenfolge des Mischens beziehen. In allen diesen Versuchen wurden geringe Mengen von Antikörper angewandt. Die angeführten Zahlen geben die Verdauungsfähigkeit des Endgemisches, d. h. die mit dem Casein verbundene Trypsinmenge in unten des näheren zu erklärender Weise an. Die Bedeutung der drei Kolonnen wird ohne weiteres klar. Das Mischen geschah in angegebener Reihenfolge bei Zimmertemperatur. In den Versuchen, deren Ergebnisse sich in der dritten Kolonne wiederfinden, wurde das Antikörper-Trypsingemisch so lange vor dem Zugeben des Caseins bei Zimmertemperatur aufbewahrt, als noch eine Abnahme des wirksamen Trypsins stattfand, d. h. bis der Antikörper seine maximale Wirkung erreicht hatte, was 2—3 Stunden in Anspruch nahm.

| Ohne Antikörper | Casein-Trypsin-Antikörper | Antikörper-Trypsin-Casein |
|-----------------|---------------------------|---------------------------|
| 12,1 | 10,95 | 4,85 |
| 25,0 | 22,8 | 17,9 |
| 16,6 | 7,55 | 3,7 |
| 15,65 | 12 | 8 |

Es liegt auf der Hand, daß das Trypsin sich zunächst mit der Substanz (Casein oder Antikörper) verbinden muß, mit welcher es zunächst vermischt wird; bei dem nachträglichen

Zugeben von der anderen Substanz mag diese etwas von dem schon gebundenen Trypsin zu sich nehmen. Wenn also die Verbindungen Antikörper-Trypsin und Casein-Trypsin völlig und leicht reversibel wären, müßte sich derselbe Endzustand sogleich einstellen, gleichgültig, in welcher Reihenfolge die Substanzen vermischt werden. Diesen Versuchen nach ist das nicht der Fall. Die erhaltenen Ziffern deuten darauf hin, daß der Antikörper das Trypsin an sich befestigt oder jedenfalls derart auf das Trypsin einwirkt, daß es vom Casein entweder gar nicht oder nur in beschränktem Grade aufgenommen werden kann, d. h. die Verbindung Antikörper-Trypsin ist entweder irreversibel oder nur sehr schwer reversibel. Dagegen fehlt es an jeder Veranlassung, anzunehmen, daß die Verbindung Casein-Trypsin irreversibel sei, da das Casein dem Antikörper dieselbe Menge Trypsin abgibt, gleichgültig, ob es vor dem Zugeben des Antikörpers einige Zeit auf das Trypsin eingewirkt hat oder nicht.

Die in oben angegebener Weise hervortretenden antitryptischen Eigenschaften des Serumalbumins gehen beim Behandeln desselben mit 0,2%iger Essigsäure während 8 Stunden bei 37° verloren, wie ich schon vorher habe zeigen können.¹⁾

Neue Versuche mit Serumalbumin.

Das als Antikörper benutzte Serumalbumin wurde aus Rindsserum in der Weise bereitet, daß zunächst die Globuline durch Halbsättigung mit Am_2SO_4 entfernt wurden, worauf das Serumalbumin durch Sättigung mit demselben Salz ausgefällt und das Salz weg dialysiert wurde. Die so erhaltene Lösung nahm etwa dasselbe Volumen ein wie das in Arbeit genommene Serum. Das Trypsin wurde durch Autolyse von Rindspankreas mit Wasser (1—2 Tage bei 37°), Filtrieren, Verdauung des Filtrates (2—3 Tage) und vollständiges Entfernen der Verdauungsprodukte durch Dialyse erhalten. Die dialysierte Lösung zeigte keine Spur von Biuretreaktion und gab mit Gerbsäure nur einen sehr geringen Niederschlag. Die gebrauchte Caseinlösung enthielt etwa 2,5% Casein in 0,25%iger Na_2CO_3 -Lösung.

¹⁾ Bio-Chemical Journ., Bd. I, S. 479 (1906).

Die verschiedenen Proben desselben Versuches enthielten alle die gleiche Flüssigkeitsmenge und wurden dieselbe Zeit (1—2 Tage) bei 37° verdaut. Als Antiseptikum wurde Toluol angewandt. Nach beendeter Verdauung wurde mit einem Überschuß von Gerbsäure gefällt und nach 12 Stunden der Stickstoff in gleichen Volumina der Filtrate bestimmt. Die zugesetzte Gerbsäuremenge war für alle zu vergleichenden Proben dieselbe. Fällung mit Gerbsäure ist schon vorher von Weis für die Untersuchung proteolytischer Verdauung benutzt worden.¹⁾ Casein bietet als Substrat den Vorteil, einmal, daß es sehr leicht verdaulich ist, und zweitens daß, wenn eine genügende Menge gebraucht wird, die Stickstoffmenge des Gerbsäurefiltrates der gebrauchten Trypsinmenge annähernd proportional ist.²⁾ Die gegebenen Analysenzahlen sind die Anzahl Kubikzentimeter $1/10$ -n-Säure, die dem erhaltenen Ammoniak entsprechen (nach Abzug der in einem Kontrollversuche ohne Trypsin erhaltenen Menge). Die Resultate sind sehr genau. Es kommt sehr selten vor, daß Parallelversuche um mehr als 0,2 ccm auseinander gehen.

Zunächst wurde ein Versuch ausgeführt, in welchem der Einfluß der Reihenfolge des Mischens sowie der der Behandlung des Antikörpers mit Essigsäure noch einmal dargelegt werden.

Versuch 1. Die Zusammensetzung der Proben und die Ergebnisse der Verdauung werden unten angegeben. Bei der Bereitung der Probe 2 wurde das Trypsin und der Antikörper vermischt und eine Stunde bei Zimmertemperatur aufbewahrt, vor dem Zugeben des Caseins. In der Probe 3 wurde das Trypsin und das Casein gemischt vor dem Zusatz des Antikörpers. In der Probe 4 wurde Serumalbumin benutzt, das durch Behandlung mit 0,2% iger Essigsäure während 20 Stunden bei 37° und Wegdialysieren der Säure erhalten worden war. Das Trypsin und das so behandelte Serumalbumin wurden vor dem Zugeben des Caseins eine Stunde vermischt aufbewahrt. Die Ziffern, welche die Mengen der Bestandteile der Gemische

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 79 (1900).

²⁾ Hedin, Observations on the action of trypsin, Journ. of Physiol., Bd. XXXII, S. 479 (1905).

angeben, bedeuten in diesem sowie in allen Versuchen Kubikzentimeter.

25 ccm Gerbsäurelösung wurden zugesetzt und 70 ccm Filtrat für die Stickstoffbestimmung genommen.

| | | | | | | | | | |
|----|----|---------|---|-----|--------------|---|-----|------------------|------|
| 1. | 15 | Trypsin | + | 50 | Casein | + | 0,5 | H ₂ O | 34,5 |
| 2. | 15 | » | + | 0,5 | Antikörper | + | 50 | Casein | 15,1 |
| 3. | 15 | » | + | 50 | Casein | + | 0,5 | Antikörper | 23,3 |
| 4. | 15 | » | + | 0,5 | Serumalbumin | + | 50 | Casein | 34,2 |

Der Einfluß der Reihenfolge des Mischens fiel also wie oben angegeben aus (Proben 2 und 3), und da die Verdauung praktisch dieselbe war in den Proben 1 und 4, so hat das mit Essigsäure behandelte Serumalbumin in diesem Falle keine hemmende Einwirkung auf die Verdauung ausgeübt, während dieselbe Menge des nicht mit Essigsäure behandelten Serumalbumins (Probe 2) eine sehr ausgesprochene Hemmung aufweist.

Wenn aber größere Mengen zugesetzt werden, zeigt auch das mit Essigsäure behandelte Serumalbumin eine deutliche Hemmung, wie aus den folgenden zwei Versuchen hervorgeht.

Versuch 2. In den Proben 2 und 4 wurde das Trypsin und Serumalbumin vor dem Zusatz des Caseins eine Stunde vermischt aufbewahrt, in den Proben 3 und 5 wurde das Trypsin zunächst mit dem Casein vermischt und dann das Serumalbumin zugegeben.

| | | | | | | | | | | | | |
|----|----|---------|---|----|---------|---|----|------------------|------|----|------------------|------|
| 1. | 10 | Trypsin | + | 50 | Casein | + | 20 | H ₂ O | 36,3 | | | |
| 2. | 10 | » | + | 10 | Albumin | + | 50 | Casein | + | 10 | H ₂ O | 28,1 |
| 3. | 10 | » | + | 50 | Casein | + | 10 | Albumin | + | 10 | » | 28,2 |
| 4. | 10 | » | + | 20 | Albumin | + | 50 | Casein | 22,8 | | | |
| 5. | 10 | » | + | 50 | Casein | + | 20 | Albumin | 22,9 | | | |

Versuch 3. Das Mischen geschah wie in Versuch 2 in angegebener Reihenfolge.

| | | | | | | | | | |
|----|---|---------|---|----|---------|---|----|------------------|------|
| 1. | 5 | Trypsin | + | 25 | Casein | + | 25 | H ₂ O | 17,1 |
| 2. | 5 | » | + | 25 | Albumin | + | 25 | Casein | 4,3 |
| 3. | 5 | » | + | 25 | Casein | + | 25 | Albumin | 4,35 |
| 4. | 5 | » | + | 25 | Albumin | + | 25 | H ₂ O | 0,5 |

Die hemmende Wirkung von größeren Mengen des mit Essigsäure behandelten Serumalbumins ist nicht zu verkennen. Zugleich zeigen beide Versuche, daß die Reihenfolge des Mischens

ohne jeden Einfluß auf die hemmende Wirkung des Albumins ist. Dies bedeutet, wenn wir die oben dargelegte theoretische Betrachtungsweise (S. 413—414) auf diesen Fall anwenden, daß das mit Essigsäure behandelte Serumalbumin wohl imstande ist, sich mit dem Trypsin zu verbinden und in der Weise das Trypsin von dem Casein abzulenken, daß aber die Verbindung Albumin-Trypsin ebenso wie die Verbindung Casein-Trypsin leicht reversibel ist. Die in Versuch 3 angewandten Casein- und Serumalbuminlösungen enthielten in demselben Volumen dieselbe Stickstoffmenge (oder Eiweißmenge) und die Proben 1 und 4 zeigen deshalb, daß das Serumalbumin auch nach Behandlung mit Essigsäure im Vergleich mit dem Casein sehr schwer verdaulich ist.

Daß das mit Essigsäure behandelte Serumalbumin trotz seiner geringen Verdaulichkeit Trypsin aufnimmt, geht schon aus der hemmenden Wirkung, welche dasselbe auf die Caseinverdauung ausübt, hervor, wird aber auch dadurch bewiesen, daß dasselbe durch Kohle adsorbiertes Trypsin ausziehen vermag. Diese Eigenschaft kommt in ausgeprägter Weise dem Casein zu, wie ich vorher gezeigt habe,¹⁾ und ich habe deshalb in dieser Beziehung das Serumalbumin mit dem Casein im folgendem Versuche verglichen.

Versuch 4. Trypsin wurde mit einer solchen Menge Kohle behandelt, daß alles Trypsin von der Kohle aufgenommen wurde. Dann wurden Gemische bereitet wie folgt:

| | | | |
|------------------------|---|-------------------------|---|
| 30 ccm Kohlesuspension | + | 10 ccm Caseinlösung | A |
| 30 » » » | + | 10 » Serumalbuminlösung | B |

Nach 3 Stunden bei Zimmertemperatur wurde filtriert, wobei völlig kohlenfreie Filtrate erhalten wurden. Zur Bestimmung der in den Filtraten erhaltenen Trypsinmengen wurden folgende Verdauungsgemische bereitet und zwei Tage bei 37° mit den angegebenen Resultaten verdaut.

| | | | | | |
|--------------|---|------------------------|---|-----------|------|
| 10 Filtrat A | + | 2,5 Serumalbuminlösung | + | 50 Casein | 3,5 |
| 10 » B | + | 2,5 Casein | + | 50 » | 2,85 |

Wie ersichtlich, enthielten die Verdauungsgemische die

¹⁾ Bio-Chem. Journ., Bd. II, S. 81 (1907).

gleichen Eiweißmengen. Die ausgezogenen Trypsinmengen entsprachen 2—3% von der ganzen, durch die Kohle aufgenommenen Menge. Die bei der Bereitung der Gemische A und B angewandten Casein- und Serumalbuminlösungen enthielten wohl die gleichen Eiweißmengen; da aber die Mengen von Na_2CO_3 etwas verschieden waren (0,25% für das Casein und 0,1% für das Serumalbumin), so sind die Resultate vielleicht streng genommen nicht vergleichbar. Immerhin beweist der Versuch, daß das Trypsin vom Serumalbumin aufgenommen wird.

Nach diesen Auseinandersetzungen wird es nicht schwer halten, die hemmende Wirkung, die größere Mengen des mit Essigsäure behandelten Serumalbumins auf die tryptische Verdauung des Caseins ausüben, zu erklären. Wenn Casein in Abwesenheit des Serumalbumins verdaut wird, kann das Casein alles Trypsin zu sich nehmen; wenn aber das Serumalbumin zugegen ist, nimmt dieses einen gewissen Teil des Trypsins für sich in Anspruch. Da das Serumalbumin im Vergleich mit dem Casein sehr schwer verdaulich ist, wird durch den vom Serumalbumin aufgenommenen Teil des Trypsins nur sehr wenig in Gerbsäure löslicher Stickstoff produziert, und die gesamte in Gerbsäure lösliche Stickstoffmenge wird geringer, als wenn das Serumalbumin nicht vorhanden gewesen wäre. Die gebildeten Verbindungen sind leicht reversibel und die Verteilung des Trypsins zwischen dem Casein und dem Serumalbumin ist offenbar von dem Verhältnis zwischen den anwesenden Mengen der beiden Stoffe abhängig. Man könnte sich wohl vorstellen, daß das Trypsin sich zwischen den zwei Stoffen so verteilt, wie eine Substanz zwischen zwei Lösungsmitteln. Für eine solche Ansicht liegen aber bis jetzt keine experimentellen Stützen vor. Außerdem muß in Betracht genommen werden, daß die Verteilung sich während der Verdauung ändern kann.

Der Unterschied zwischen der antitryptischen Wirkung des Serumalbumins vor und nach der Behandlung mit Essigsäure liegt nunmehr auf der Hand. Natives (nicht mit Säure behandeltes) Serumalbumin wirkt in der Weise auf Trypsin ein, daß entweder das Serumalbumin selbst oder irgend welche ihm anhaftende Substanz das Trypsin aufnimmt und in der

Weise an sich befestigt oder verändert, daß es nicht oder nur sehr schwer an Casein abgegeben werden kann. Mit dieser Verfestigung hängt es wahrscheinlich zusammen, daß das Vermögen, das Trypsin aufzunehmen, ein sehr großes ist, und daß deshalb die hemmende Wirkung auch bei geringen Mengen von Serumalbumin sich sehr deutlich geltend macht. Mit Essigsäure behandeltes Serumalbumin nimmt auch das Trypsin auf, aber das Vermögen, das Trypsin an sich zu befestigen, hat das Serumalbumin nunmehr verloren. An eine große Menge von Casein gibt das Serumalbumin nunmehr alles Trypsin ab und nur wenn kein Überschuß von Casein vorhanden ist, behält das Serumalbumin einen Teil des Trypsins. Die Verteilung des Trypsins hängt von dem Mengenverhältnis und wahrscheinlich auch von der Affinität der beiden Eiweißkörper zum Trypsin ab.

Wenn also natives und mit Essigsäure denaturiertes Serumalbumin beide die tryptische Verdauung hemmen, so geht jedoch aus dem Gesagten zum Überfluß hervor, daß die hemmende Wirkung des nativen Serumalbumins bei weitem die kräftigere ist. Dieselbe zeigt auch mancherlei Ähnlichkeiten mit der Wirkungsart der Antitoxine, worauf ich schon vorher die Aufmerksamkeit hingelenkt habe.¹⁾ Nach Ehrlich und Sachs werden auch die Toxine an ihren Antikörpern befestigt und zwar gilt dies, soviel ich habe finden können, für alle daraufhin untersuchten Gifte mit Ausnahme der Cobragifte.²⁾ Diese Ansicht gründen Ehrlich und v. Dungern auf die Beobachtung von Danysz, daß, wenn zu derselben Antitoxinmenge Toxin in zeitlich getrennten Fraktionen hinzugefügt wird, das Endgemisch erheblich giftiger ist, als wenn dieselbe Toxinmenge auf einmal mit dem Antitoxin gemischt wird. Zur Erklärung dieses Phänomens wird jedenfalls außer der Verfestigung des Toxins auch das Vorhandensein in den untersuchten Giftlösungen von verschiedenen Toxinen mit verschiedener Giftigkeit und Avidität zum Antitoxin herangezogen.

Meine Versuche, das Danyszsche Phänomen in dem Falle

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. L, S. 497 (1907).

²⁾ Über die Beziehungen zwischen Toxin und Antitoxin und die Wege ihrer Erforschung. Leipzig 1905.

von Trypsin nachzuweisen, sind bis jetzt gescheitert. Die tryptische Wirksamkeit der Gemische, die einerseits durch fraktioniertes Zugeben des Trypsins, andererseits durch Zusatz der ganzen Trypsinmenge auf einmal erhalten worden waren, war mit dem untersuchten Trypsin immer genau dieselbe. Wie aus dem Angeführten hervorgeht, glaube ich die Verfestigung des Trypsins am Antikörper in anderer Weise bewiesen zu haben.

Der Einfluß der Reihenfolge des Mischens von Antikörper, Trypsin und Casein scheint dem Verhalten der Toxine und Antitoxine analog zu sein: Wenn das Toxin und der Antikörper geschieden einem Tiere eingespritzt werden, wird die Wirkung des Antikörpers weniger ausgesprochen, als wenn das Toxin und der Antikörper vermischt und eine gewisse Zeit aufbewahrt werden vor dem Einspritzen. Das Versuchstier, auf das das nicht neutralisierte Toxin einwirkt, entspricht in diesem Falle dem Casein, durch welches die Wirkung des frei gebliebenen Trypsins bestimmt wird.

Auch Arrhenius, der in dem Neutralisierungsvorgang eines Toxins durch das entsprechende Antitoxin eine chemische Reaktion erblickt, die mit der zwischen einer schwachen Säure und einer schwachen Base verglichen werden kann, nimmt nunmehr an, daß infolge sekundärer Reaktionen «das Band zwischen Toxin und Antitoxin mit der Zeit fester wird». ¹⁾

Biltz, Much und Siebert, die das erste Stadium der Neutralisierung der Toxine als eine Adsorptionerscheinung betrachten, nehmen an, daß das einmal adsorbierte Toxin zerfällt und zwar viel schneller als in freiem Zustande, was praktisch einer dauernden Verfestigung gleichkommt. ²⁾

Fassen wir die obigen Resultate kurz zusammen, so ergibt sich:

1. Das native Serumalbumin neutralisiert Trypsin unter Verfestigung desselben und die Wirkung tritt auch bei An-

¹⁾ Svante Arrhenius, Immunochemie, Leipzig 1907, S. 126.

²⁾ Experimentelle Beiträge zu einer Adsorptionstheorie der Toxinneutralisierung und verwandten Vorgänge, Behrings Beiträge zur experimentellen Therapie, Heft 10, S. 53, 1905.

wendung von sehr kleinen Mengen von Serumalbumin hervor. Da die Wirkung auch in anderen Beziehungen mit der der Antitoxine Ähnlichkeiten darbietet, dürfte wohl die wirksame Substanz als ein wahrer Antikörper bezeichnet werden können.

2. Nach Behandlung mit schwacher Essigsäure wirkt das Serumalbumin, nur wenn es in größeren Mengen angewandt wird, hemmend auf die tryptische Verdauung des Caseins. Dabei findet keine Verfestigung des Trypsins statt. Diese Wirkung dürfte zweckmäßig als Enzymablenkung bezeichnet werden können.

Für das Zustandekommen einer solchen Trypsinablenkung sind folgende Bedingungen erforderlich:

Die ablenkende Substanz muß das Trypsin aufzunehmen imstande sein und zwar ohne Verfestigung desselben. Außerdem muß die ablenkende Substanz im Vergleich mit dem gebrauchten Substrat schwer verdaulich sein. Leicht verdauliche Substanzen sind zwar auch imstande, Trypsin abzulenken, aber einerseits geht das ablenkende Vermögen bei der Verdauung verloren, andererseits deckt die Verdauung der ablenkenden Substanz die verminderte Verdauung des eigentlichen Substrates. Wenn eine schwach alkalische Lösung des mit Essigsäure behandelten Serumalbumins erhitzt wird, nimmt dessen Verdaulichkeit zu. Gleiche Volumina des Albumins gaben mit derselben Trypsinmenge folgende Resultate:

| | |
|------------------|-------|
| Vor dem Erhitzen | 2,9 |
| Nach » » | 14,75 |

Dem entsprechend wurde das hemmende Vermögen nach dem Erhitzen niedriger gefunden:

| | | | | | |
|-----------|---|-----------|---|----------------------------|------|
| 5 Trypsin | + | 25 Casein | + | 25 H ₂ O | 21,1 |
| 5 » | + | 25 » | + | 25 nicht erhitztes Albumin | 6,35 |
| 5 » | + | 25 » | + | 25 erhitztes » | 19,8 |

Außer dem mit Essigsäure behandelten Serumalbumin habe ich auch das Eiklar und tryptische Verdauungsprodukte in bezug auf ihr ablenkendes Vermögen untersucht.

Proteinstoffe des Eierklars.

Daß die Proteinstoffe des Eierklars die tryptische Verdauung anderer Stoffe hemmen, wurde schon von Delezennes

und Pozerski¹⁾ beobachtet. Die Wirkung wurde von diesen Forschern als eine antikinatische oder antitryptische bezeichnet. Einer ähnlichen Ansicht schließt sich auch Vernon an,²⁾ während Gompel und Henri³⁾ die Wirkung in der Weise erklären, daß das Eierklar vor dem eigentlichen Substrat verdaut wird.

Ich habe dialysierte Wasserlösungen von Eierklar untersucht und gefunden,

1. daß das Eierklar im Vergleich mit Casein sehr schwer verdaulich ist;

2. daß es in größeren Mengen zugegeben eine deutliche Hemmung auf die Verdauung des Caseins ausübt,

3. daß dabei die Reihenfolge des Mischens ohne Belang ist, d. h. daß keine Verfestigung des Trypsins stattfindet.

Nach dem Gesagten würde demnach die hemmende Wirkung des Eierklars nicht auf irgend einem wahren Antikörper beruhen, was auch von vornherein wahrscheinlich war, sondern auf einer Ablenkung des Trypsins vom Casein durch die schwerer verdaulichen Proteinkörper des Eierklars.

Daß das Eierklar im Vergleich mit dem Casein nur sehr schwer verdaulich ist, geht aus folgendem Versuch hervor:

| | |
|-----------------------------------|-------------------|
| 20 Casein + 5 Trypsin | 11,8 |
| 20 Eierklar + 5 Trypsin | 0,3 |
| 20 gekochtes Eierklar + 5 Trypsin | 0,7 ⁴⁾ |

Die Tatsache, daß das Eierklar auch nach Kochen schwer verdaulich ist, erklärt, daß nach Vernon auch so behandeltes Eierklar die Verdauung hemmt.

Die hemmende Wirkung des Eierklars wird folgendermaßen bewiesen:

| | | | | |
|----|------------|---------------|-----------------------|------|
| 1. | 10 Trypsin | + 50 Casein | + 20 H ₂ O | 28,6 |
| 2. | 10 » | + 50 » | + 20 Eierklar | 12,6 |
| 3. | 10 » | + 20 Eierklar | + 20 Casein | 12,2 |

¹⁾ Compt. rend. Soc. biol., Bd. LV, S. 935 (1903).

²⁾ Journ. of Physiol., Bd. XXXI, S. 497 (1904).

³⁾ Compt. rend. Soc. biol., Bd. LVIII, S. 457 (1905).

⁴⁾ Die angewandte Caseinlösung und Eierklarlösung enthielten in 5 ccm folgende Stickstoffmengen in Kubikzentimetern $\frac{1}{10}$ -n-Säure ausgedrückt:

| | |
|------------------|------|
| Die Caseinlösung | 11,7 |
| » Eierklarlösung | 13,9 |

In Probe 3 wurden das Trypsin und das Eierklar eine Stunde vermischt aufbewahrt vor dem Zugeben des Caseins.

Auch auf die Verdauung von gekochtem Serumalbumin wirkt das Eierklar hemmend ein:

| | | | | | | | |
|---------------------------|---|-----------|---|---------------------|-----|-------------|-----|
| 25 gekochtes Serumalbumin | + | 5 Trypsin | + | 10 H ₂ O | 6,5 | | |
| 25 » | » | » | + | 5 » | + | 10 Eierklar | 1,1 |

Die gebrauchten Lösungen reagierten beide neutral.

Die tryptischen Verdauungsprodukte.

Voraussichtlich läßt sich irgend welche, durch die Endprodukte der tryptischen Verdauung ausgeübte Hemmung der Verdauung nicht erwarten, da sich dieselben wahrscheinlich nicht mit dem Trypsin verbinden. Höchstens könnten sie die Verdauung in der Weise beeinflussen, daß sie durch ihre alkali- oder säurebindenden Eigenschaften die Reaktion des Verdauungsgemisches etwas ändern könnten. Ich habe den Einfluß von Alanin und von Glykokoll wiederholt untersucht, ohne irgend welche Einwirkung auf die Verdauung des Caseins nachweisen zu können:

| | | | | | | |
|------------|---|---------------------|-----------------|---|-----------|-------|
| 100 Casein | + | 10 H ₂ O | | + | 5 Trypsin | 27,05 |
| 100 » | » | + | 10 Alaninlösung | + | 5 » | 61,8 |

Da die Stickstoffmenge der Alaninlösung 34,15 entsprach, wird die von der Verdauung des Caseins herrührende Stickstoffmenge 27,65 oder dieselbe wie die in Abwesenheit von Alanin erhaltene (27,05).

| | | | | | | |
|---|---|---------------------|-------------------|---|-----------|---------|
| 10 Casein | + | 20 H ₂ O | | + | 5 Trypsin | 12,10 |
| 10 » | » | + | 20 Glykokollösung | + | 5 » | 75,15 |
| Stickstoff im Glykokoll | | | | | | 62,8 |
| Von der Verdauung herrührender Stickstoff | | | | | | 12,35 |
| oder dieselbe Menge wie ohne Glykokoll | | | | | | (12,10) |

Anders stellt sich offenbar die Sache, wenn sich unter den Verdauungsprodukten auch solche finden, welche noch durch das Trypsin verändert werden können. Von solchen Stoffen rührt wahrscheinlich der hemmende Einfluß her, der unzweifelhaft durch die Verdauungsprodukte ausgeübt wird. Um diesen nachzuweisen, wurde Casein mit Trypsin einige Tage verdaut, worauf das Verdauungsgemisch aufgeköcht wurde. Dann wurde

einige Stunden dialysiert, um die leicht dialysierbaren Endprodukte zum Teil loszuwerden. Die resultierende Lösung gab eine starke Biuretreaktion und reagierte annähernd neutral. Die Verdauungsversuche fielen wie folgt aus:

| | | | | | | | |
|----|------------|---|----------------------|--|---|----------------------|------|
| 1. | 10 Trypsin | + | 25 Casein | | + | 25 H ₂ O | 20,4 |
| 2. | 10 » | + | 25 » | | + | 25 ccm Verd.-Produkt | 16,5 |
| 3. | 10 » | + | 25 ccm Verd.-Produkt | | + | 25 Casein | 16,6 |
| 4. | 10 » | + | 25 » | | + | 25 H ₂ O | 0,4 |

In Probe 3 wurden das Trypsin und die Verdauungsprodukte 1 Stunde vor dem Zugeben des Caseins aufbewahrt. In den für die Proben 2, 3, 4 angeführten Analysenzahlen ist die am Anfang des Versuches in den Verdauungsprodukten vorhandene nicht mit Gerbsäure fällbare Stickstoffmenge abgezogen worden. Der Versuch zeigt also, daß die Verdauungsprodukte eine deutliche Hemmung auf die Verdauung des Caseins ausüben, und zwar ist diese Hemmung unabhängig von der Reihenfolge, in welcher das Mischen der drei Substanzen vor sich geht. Die hemmende Wirkung der Verdauungsprodukte ist also als eine Ablenkungserscheinung zu deuten. Einer ähnlichen Ansicht schließt sich Euler an.¹⁾

Zusammenfassung.

Die antitryptische Wirkung des Serumalbumins beruht auf der Aufnahme und Verfestigung des Trypsins entweder durch das Serumalbumin selbst oder durch irgend welche ihm anhaftende Substanz. Der Prozeß ist also entweder gar nicht oder nur sehr schwer reversibel und hat mit dem Neutralisieren eines Toxins durch dessen Antikörper vieles gemeinsam. Durch Behandlung mit schwacher Essigsäure geht das Vermögen, das Trypsin an sich zu verfestigen, dem Serumalbumin verloren. In größeren Mengen vermag das Serumalbumin noch die Verdauung leicht verdaulicher Eiweißkörper zu hemmen, aber dies liegt an der Bildung einer leicht reversiblen Verbindung desselben mit dem Trypsin (Trypsinablenkung). Eine solche Wirkung kommt auch dem Eierklar sowie den tryptischen Verdauungsprodukten zu.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LI, S. 221 (1907).