

# Zur Frage der Beziehung zwischen Pepsin- und Labwirkung.

Von  
**R. O. Herzog.**

(Aus dem chemischen Institut der technischen Hochschule in Karlsruhe.)

(Der Redaktion zugegangen am 3. Mai 1909.)

Vor einiger Zeit habe ich mit Hilfe Weinlands Antifermenten versucht, die Identität der proteolytischen und der sogenannten Plasteinwirkung aufzuzeigen, oder mit anderen Worten nachzuweisen, daß die abbauende Wirkung der Fermente dem Eiweiß gegenüber auf dieselbe Ursache zurückzuführen ist, wie die synthetische gegenüber den Eiweißspaltungsprodukten.<sup>1)</sup> Damals wurde ein Einfluß des Antifermentes auf die Wirkung von Labpräparaten nicht beobachtet. Bei der Diskussion über die Identität oder Verschiedenheit von Pepsin- und Labwirkung gewann der Versuch ein erneutes Interesse und wurde daher bereits vor 3 Jahren wiederholt.

Von einem Grüblerschen Labpräparat wurden 4 Verdünnungen hergestellt und je 1 ccm der Fermentlösung mit 2 ccm einmal des gewöhnlichen und zum Vergleich des aufgekochten (und damit inaktivierten) Askarispreßsaftes vermischt und diese Mischung auf 5 ccm Milch einwirken gelassen.

Die Milch gerann nach folgender Anzahl von Sekunden:

Labkonzentration	1. Verdünnung	2. Verdünnung	3. Verdünnung	4. Verdünnung
Inaktivierter Askarispreßsaft .	13	39	69	113
Aktiver . . . . .	13	36	74	114

Es zeigt sich also kein Unterschied in der Wirkung des aktiven oder inaktivierten Antifermentes wie auch bei den früher mitgeteilten Versuchen.

Zum Vergleich wurde nun das Verhalten eines Pepsin-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXXIX, S. 305 (1903).

präparates (Grübler), das mit Askarispreßsaft behandelt wurde, gegenüber Milch untersucht.

Zuerst wurde geprüft, bei welchen Konzentrationen die Pepsinwirkung durch das Antiferment gehemmt werde.

1 ccm Pepsinlösung + 2 ccm inaktiver Askarispreßsaft verdauten  
2,13 mm nach Mett.

1 ccm Pepsinlösung + 2 ccm aktiver Askarispreßsaft verdauten  
1,60 mm nach Mett.

0,5 ccm Pepsinlösung + 2,5 ccm inaktiver Askarispreßsaft verdauten  
1,37 mm nach Mett.

0,5 ccm Pepsinlösung + 2,5 ccm aktiver Askarispreßsaft verdauten nicht.

Die Lösungen waren stets 0,1 normal an Salzsäure. Säurefreie Mischungen verdauten bei den angewandten Pepsinkonzentrationen nicht.<sup>1)</sup>

Zum Vergleich wurden nun diese Mischungen auf Milch einwirken gelassen. Um die Gerinnung leichter eintreten zu lassen, wurde die Milch soweit mit HCl versetzt, als ohne Flockenbildung möglich war.

1 ccm Pepsinlösung + 2 ccm inaktiver Askarispreßsaft bringt in  
42 Sekunden 5 ccm Milch zur Gerinnung.

1 ccm Pepsinlösung + 2 ccm aktiver Askarispreßsaft bringt in  
196 Sekunden 5 ccm Milch zur Gerinnung.

Bei Anwendung der schwächeren Pepsinlösungen trat in gut meßbarer Zeit keine Gerinnung ein.

Dasselbe Resultat wurde mit anderen Askarispreßsäften und Pepsinpräparaten ebenfalls erhalten; z. B. wurde gefunden, daß ein Präparat mit inaktivem Antipepsin versetzt in 125 Sekunden, mit aktivem in 260 Sekunden Milch zur Gerinnung brachte. Bei anderen Versuchsbedingungen betrug die Gerinnungszeiten 116 resp. 211 Sekunden. (Hierbei ergab sich, daß der Zusatz von  $\text{CaCl}_2$  bis zu einer gewissen Konzentration gleichmäßig bei Anwendung von aktivem wie inaktivem Antiferment den Eintritt der Gerinnung begünstigte: ein weiterer Zusatz war wirkungslos.)

Es besteht also kein Zweifel, daß Askarispreßsaft die Milchgerinnung durch Pepsinpräparate hemmen kann. Mit der Säure oder alkalischen Reaktion der Säfte dürfte wohl

<sup>1)</sup> Vgl. dazu M. Jakoby, Biochem. Zeitschrift, Bd. I, S. 68 Anm. (1906).

kein Zusammenhang vorliegen, da ja zu den Vergleichen aufgekochte Antifermente dienten.)

Unter diesen Umständen erschien es notwendig, nochmals auf Versuche mit Labpräparaten zurückzugreifen. Jetzt gelangten sehr verdünnte Labpräparate<sup>1)</sup> unter möglichst günstigen Gerinnungsbedingungen<sup>2)</sup> zur Anwendung. Unter solchen Umständen konnte nun in der Tat auch eine Hemmung der Labwirkung<sup>3)</sup> bei diesen Präparaten aufgefunden werden, wie folgende Beispiele zeigen:

0,5 ccm Lablösung + 2 ccm inaktivierter Askarispreßsaft bringt in  
107 Sekunden 3 ccm Milch zur Gerinnung.

0,5 ccm Lablösung + 2 ccm aktiver Askarispreßsaft bringt in  
150 Sekunden 3 ccm Milch zur Gerinnung.

oder

0,5 ccm Lablösung + 2 ccm inaktivierter Askarispreßsaft bringt in  
144 Sekunden 3 ccm Milch zur Gerinnung.

0,5 ccm Lablösung + 2 ccm aktiver Askarispreßsaft bringt in  
180 Sekunden 3 ccm Milch zur Gerinnung.

(Chlorcalcium zeigte dieselbe Wirkung wie bei Pepsinpräparaten.)

Die angeführten Versuche zeigen also, daß in der Tat die Labpräparate wie die der proteolytischen Fermente in ihrer Wirkung durch einen hitzeempfindlichen Stoff im Askarispreßsaft gehemmt werden.

Es sei gestattet, an dieser Stelle einige in unserem Laboratorium erhaltenen Ergebnisse zusammenzustellen, die in Beziehung mit der viel diskutierten Frage über den Zusammenhang zwischen proteolytischer und labender Wirkung stehen.

1. Mit H. Kasarnowski<sup>4)</sup> habe ich Diffusionsversuche

<sup>1)</sup> Vgl. Pawlow und Parastschuk, Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 415 (1904).

<sup>2)</sup> Für Labungsversuche, die sich auf längere Zeiten erstrecken, ist öfters erwünscht, über eine Milch von konstanter Gerinnungszeit zu verfügen. Man gelangt zu solcher, wenn man Milch erst kräftig mit reichlich Toluol und Chloroform schüttelt, mehrere Stunden stehen läßt und nur die mittlere, durch Abheben leicht zu gewinnende Schicht verwendet. Durch Filtration durch ein Faltenfilter wird sie völlig flockenfrei gemacht.

<sup>3)</sup> Vgl. M. Jakoby, l. c. S. 67.

<sup>4)</sup> Zeitschrift f. Elektroch., 1907, S. 533. Vgl. auch Zeitschrift f. Kolloide, Bd. II (1907), Heft 1.

mit Pepsin- sowie mit Labpräparaten angestellt. Dabei wurden folgende Diffusionskonstanten gefunden (auf 18° C. bezogen):

Bei einem Pepsinpräparat, dessen Konzentrationen an seiner verdauenden Wirkung gemessen wurden: 0,070;

bei einem Pepsinpräparat, dessen Konzentrationen an seiner verdauenden Wirkung gemessen wurden: 0,062;

bei einem Pepsinpräparat, dessen Konzentrationen an seiner labenden Wirkung gemessen wurden: 0,077;

bei einem Pepsinpräparat, dessen Konzentrationen an seiner labenden Wirkung gemessen wurden: 0,068;

bei einem Pepsinpräparat, dessen Konzentrationen an seiner verdauenden Wirkung gemessen wurden: 0,074;

bei demselben Präparat, dessen Konzentrationen an seiner labenden Wirkung gemessen wurden: 0,072;

bei einem Labpräparat: 0,064;

0,068.

Man sieht, daß die Diffusionskoeffizienten in mäßigen Intervallen für die außerordentliche Schwierigkeit der Versuche um einen Mittelwert schwanken; mit anderen Worten die Diffusionskonstanten und damit höchstwahrscheinlich die Molekulargewichte der angewandten Stoffe liegen jedenfalls einander nahe. Denselben Schluß konnte man auch aus den allerdings mehr qualitativen Versuchen Jakobys<sup>1)</sup> ziehen.

2. Die vorstehenden Versuche zeigen ein gleichartiges Verhalten gegen Antifermente der Askariden an.

3. Die Versuche mit Margolis<sup>2)</sup> ergeben, daß den Labpräparaten gelöstem Ovalbumin gegenüber ein analoges Verhalten wie dem Pepsin zukommt, nur mit einer erheblichen Dämpfung der Reaktionsgeschwindigkeit.

Es ist nun die Frage, ob man die Versuche mit Pawlow im Sinne einer Identität der Ursachen beider Vorgänge deuten darf. Eine außerordentlich auffällige Parallelität besteht ohne Zweifel, wie besonders auch Gewins<sup>3)</sup> Arbeit zeigt. Aber gerade aus diesen Experimenten folgt unsere Unkenntnis einfacher Faktoren wie der Acidität der Lösung. So ist z. B. bei den eben mitgeteilten Antifermentversuchen daran zu denken, daß die Beobachtungen

<sup>1)</sup> l. c.

<sup>2)</sup> S. die vorangehende Mitteilung.

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LIV, S. 32 (1907).

erst durch Zusatz von Salzsäure zur Milch, ferner von Chlorcalcium möglich wurden; wahrscheinlich handelt es sich bloß um eine Löslichkeitsbeeinflussung, aber zu beweisen ist eine solche Annahme nur mit größter Schwierigkeit. Um wie viel unübersichtlicher werden die Fragen dadurch, daß noch Hemmungsstoffe eine erhebliche Rolle spielen, wie außer Pawlow und Parastschuk noch Van Herwerden<sup>1)</sup> gezeigt hat. Dazu kommt vor allem unsere Unkenntnis des Chemismus beider fraglichen Vorgänge, auf die durch die Versuche Schmidt-Nielsens<sup>2)</sup> und Hammarstens<sup>3)</sup> erst ein deutliches Licht geworfen wird.

Man könnte auch an Stelle der von Pawlow oder von Nencki und Sieber<sup>4)</sup> und von Pekelharing<sup>5)</sup> ausgesprochenen Hypothesen über die Beziehung zwischen Lab und Pepsin (oder den Trypsinen) sich die Vorstellung machen, es lägen zwei Modifikationen eines Stoffes vor, die sich in einander umwandeln können. Aber für bewiesen werden dergleichen Annahmen erst dann zu erachten sein, wenn sie durch eine genügend große Zahl von Eigenschaften quantitativ festgestellt sind. Die Kenntnis der Diffusionskonstanten kann zur Entscheidung nicht als genügend angesehen werden, zumal bei so hoch molekularen, kolloidalen Verbindungen. Es besteht noch die Möglichkeit, z. B. die Absättigung durch Antifermente,<sup>6)</sup> die Inaktivierungsgeschwindigkeiten durch höhere Temperatur,<sup>7)</sup> Licht<sup>8)</sup> usw. festzustellen. Vielleicht liegt der größte Wert der Fragestellung, ob Identität vorliegt oder liegt, darin, daß sie auf die Methodik der Untersuchung befruchtend wirkt.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LII, S. 184.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLVIII, S. 92 (1906); Hofmeisters Beiträge, Bd. IX, S. 322 (1907).

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LVI, S. 18 (1908).

<sup>4)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXXII, S. 291 (1901).

<sup>5)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXII, S. 233, und Bd. XXXV, S. 8 (1902).

<sup>6)</sup> Arrhenius, Immunochemie, 1907, S. 180/1.

<sup>7)</sup> Dasselbst, S. 26 u. ff.

<sup>8)</sup> Signe u. Sigval Schmidt-Nielsen, Diese Zeitschrift, Bd. LVIII, S. 232 (1908).