

Zur Kenntnis der peptolytischen Fermente verschiedenartiger Krebsé und anderer Tumorarten.

II. Mitteilung.

Von

Emil Abderhalden, A. H. Koelker und Florentin Medigreceanu.

(Aus dem physiologischen Institute der tierärztlichen Hochschule, Berlin, und dem Imperial Cancer Research Fund, London. Direktor Dr. E. F. Bashford.)

(Der Redaktion zugegangen am 15. August 1909.)

Wir haben auf breiter Basis Versuche in Angriff genommen, welche mit möglichst exakten Hilfsmitteln die Frage zur Entscheidung bringen sollen, ob die verschiedenartigen Tumoren in ihren Zellen Fermente besitzen, welche sich von denen normaler Zellen in ihrer Wirkung unterscheiden, sei es, daß qualitative Unterschiede vorhanden sind, sei es, daß solche quantitativer Art vorliegen. Wir haben zunächst die peptolytischen Fermente untersucht und zwar mit Hilfe von synthetisch dargestellten Polypeptiden und von durch partielle Hydrolyse erhaltenem Seidenpepton. Unser Plan war folgender: Erstens sollte entschieden werden, ob aus Tumorzellen gewonnener Preßsaft Polypeptide angreift. Diese Fragestellung konnte bereits im positiven Sinne beantwortet werden.¹⁾ Zweitens war die Frage zu entscheiden, ob aus Tumoren gewonnener Preßsaft bestimmte Polypeptide resp. Seidenpepton rascher spaltet als Preßsaft aus normalen Geweben der gleichen Tierart und noch besser des gleichen Tieres, von dem der Tumor entstammt. Drittens ergab sich die Frage, ob komplizierter gebaute Polypeptide — Tripeptide, Tetrapeptide usw. — von Preßsaft aus Tumorzellen in der gleichen Art abgebaut werden, wie vom

¹⁾ Emil Abderhalden und Peter Rona; Zur Kenntnis der peptolytischen Fermente verschiedenartiger Krebsé. Diese Zeitschr., Bd. LX, S. 411, 1909.

Preßsaft normaler Zellen. Dieses Problem mußte sich mit Hilfe der Verfolgung des optischen Verhaltens einer Lösung des Polypeptids unter Zusatz der entsprechenden Preßsäfte klar entscheiden lassen.¹⁾ Hier waren noch Vorversuche nötig. Es war zwar bereits festgestellt worden, daß — soweit die Erfahrung reicht — Preßsäfte aus normalen Geweben bestimmte Polypeptide stets in gleicher Weise abbauen,²⁾ hingegen war noch nicht geprüft worden, ob die Art des Abbaus von der Menge des vorhandenen Fermentes beeinflußt wird. Wir haben deshalb verschiedene Mengen von Hefepreßsaft auf l-Leucyl-diglycylglycin einwirken lassen und gefunden, daß der Abbau stets in gleicher Art verläuft, und zwar wird offenbar zunächst l-Leucin abgespalten:

$$\begin{array}{c} \text{l-Leucyl-glycyl-glycyl-glycin.} \\ \hline \quad \quad \quad + 45,85^\circ \\ \quad \quad \quad \hline \quad \quad \quad 0^\circ \\ \hline \quad \quad \quad + 85,99^\circ. \end{array}$$

Das Drehungsvermögen sank konstant. Hätte der Abbau am andern Ende der Kette zuerst eingesetzt, so wären andere Änderungen im optischen Verhalten zu erwarten gewesen.

Endlich war noch die Frage zu entscheiden, ob der Preßsaft von Tumorzellen auch Polypeptide spaltet, die Aminosäuren enthalten, die in der Natur nicht vorkommen.³⁾ Zu diesen Versuchen wählten wir dl-Leucyl-glycin. Wir beobachteten ausschließlich eine asymmetrische Spaltung dieses Dipeptids, d. h. es wurde wohl l-Leucyl-glycin gespalten, nicht jedoch d-Leucyl-glycin.

Wenn wir die unten mitgeteilten Versuche vergleichen, dann ergibt sich, daß bis jetzt in der Art der Wirkung der

¹⁾ Emil Abderhalden und A. H. Koelker, Weiterer Beitrag zur Kenntnis des Verlaufs der fermentativen Polypeptidspaltung unter verschiedenen Bedingungen. Diese Zeitschr., Bd. LIV, S. 363, 1908.

²⁾ Emil Abderhalden und Carl Brahm, Zur Kenntnis des Verlaufs der fermentativen Polypeptidspaltung. VI. Mitt. Diese Zeitschr., Bd. LVII, S. 342, 1908.

³⁾ Vgl. hierzu: Emil Abderhalden und Hans Pringsheim, Studien über Specificität der peptolytischen Fermente bei verschiedenen Pilzen. I. Mitt. Diese Zeitschr., Bd. LIX, S. 249, 1909.

peptolytischen Fermente sich keine Unterschiede gegenüber den entsprechenden Fermenten normaler Gewebe feststellen ließen, dagegen spricht manches dafür, daß quantitative Unterschiede vorhanden sind, d. h. der Preßsaft aus den unten erwähnten Tumoren schien rascher zu spalten als Preßsaft aus normalen Zellen. Die begonnenen Versuche müssen noch auf ein größeres und mannigfaltigeres Material ausgedehnt werden, und vor allem wird es unsere Aufgabe sein, Methoden zu finden, die einwandfreie Vergleiche in quantitativer Hinsicht ermöglichen.

Die zu den folgenden Versuchen verwendeten Tumoren waren uns in liebenswürdigster Weise von Herrn Dr. Bashford, London, zur Verfügung gestellt worden. Es handelte sich einmal um Mäuse, die mit Tumor 63 — einem ursprünglichen haem. Adenocarcinoma Mammae¹⁾ — geimpft waren. Die Geschwulst hat alveolaren Charakter und gehört zu den konstant bleibenden Tumoren epithelialer Natur. Der Tumor geht beim Überimpfen (Einspritzen) in 80—100% der Fälle an und wächst sehr schnell. Nach Einimpfen von 0,05 g der Geschwulst erhält man nach ca. 20 Tagen 3—3½ g schwere Tumoren. Eine Resorption der Geschwulst tritt selten ein. Bei älteren Tumoren beobachtet man Metastasen in den Lungen.

Untersucht wurde ferner Tumor 92, ursprünglich ein spindelzelliges Sarkom der Milchdrüse. Nach der Exstirpation des Tumors waren Recidive mit chondro-osteoidem Gewebe aufgetreten. Der auf Mäuse geimpfte Tumor zeigt spindelzelligen Charakter. Bei älteren Tumoren tritt oft chondroides, manchmal auch osteoides Gewebe auf. Das Wachstum der überimpften Tumoren ist kein einheitliches. Nach Einimpfen von 0,015 g Tumor (mit der Nadel übertragen) erhält man oft in ca. 3 Wochen 5 g schwere Tumoren, oft erreichen die Tumoren jedoch in einem Monat nur ein Gewicht von 3 g. Der Tumor geht in 80—100% an, in etwa 50 und oft noch mehr Prozenten der Fälle tritt Resorption ein.

¹⁾ Vgl. über weitere Einzelheiten: Third Scientific Report on the Investigations of the Imperial Cancer Research Fund. London 1908, S. 92, 93, S. 80, Fig. 33, 16 u. 17.

Experimenteller Teil.**1. Darstellung des Preßsaftes.**

a) Gewinnung von Preßsaft aus der Leber normaler Mäuse (I). Es wurden die Lebern von 8 normalen Mäusen möglichst entblutet, dann in größere Stücke zerschnitten und nun mit physiologischer Kochsalzlösung so lange gewaschen, bis das Waschwasser farblos abfloß. Nachdem die Kochsalzlösung abgeflossen war, wurden die Leberstücke mit Quarzsand zerrieben. Dann vermengten wir den Brei mit Kieselgur und preßten die plastische Masse bei 300 Atmosphären Druck aus. Da wir nur geringe Mengen von Preßsaft erhielten, wurde die ganze Masse mit 5,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung angerieben und nun nochmals ausgepreßt. Wir erhielten 2,0 ccm Preßsaft. Er wurde filtriert. Da sehr oft nachträglich noch Trübungen in derartigen Preßsäften sich einstellen, empfiehlt es sich, den gewonnenen Saft 12—16 Stunden bei 37° aufzubewahren und dann zu filtrieren. Man schaltet so vor allem auch die Selbstverdauung des Saftes möglichst aus.

b) Gewinnung von Preßsaft aus der Leber von Mäusen, die Tumoren (63) besaßen (II). Das Verfahren war genau so wie bei a). Verwendet wurden 8 Mäuse. Die Leber dieser Tiere erschien im Durchschnitt gegenüber derjenigen normaler Tiere vergrößert. Die mit Kieselgur vermischte Masse wurde mit 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung angerieben.

c) Preßsaft aus Tumoren (III). Verwendet wurden 8 große Geschwülste ^{63/29C}. Sie wurden in größere Stücke zerschnitten und zur Entfernung von Blut und Gewebsflüssigkeit so lange mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, bis die Lösung klar und farblos abfloß. Im übrigen erfolgte die Verarbeitung wie bei a). Gewonnen 2,5 ccm Saft. Er wurde ohne vorhergehende Verdauung benutzt (IIIa). Der nach erfolgter Auspressung verbleibende Rückstand wurde mit 20 ccm physiologischer Kochsalzlösung verrieben und nochmals ausgepreßt — Preßsaft IIIb. Auch dieser Saft wurde ohne vorhergehendes Aufbewahren bei 37° verwendet.

d) Preßsaft aus Tumoren (IV). 20 Geschwülste — ^{63,29C} — wurden in genau der gleichen Weise behandelt, wie bei c). Es wurden gewonnen: 1. ein Preßsaft, ohne vorherige Beimengung von physiologischer Kochsalzlösung. Menge 25 ccm = Preßsaft IV a. Er wurde 16 Stunden auf 37° erwärmt, bevor er verwendet wurde. 2. Ein Preßsaft = IV b, nach erfolgter Zufügung von 40 ccm physiologischer Kochsalzlösung zum Preßrückstand. Menge 30 ccm, 16 Stunden bei 37° aufbewahrt. 3. Preßsaft, nach erfolgter Durchknetung des Preßrückstandes von 2 mit 40 ccm physiologischer Kochsalzlösung = Preßsaft IV c. Auch dieser Saft wurde vor der Benutzung 16 Stunden bei 37° aufbewahrt.

e) Preßsaft aus Tumoren — ^{92/25A}. Verwendet 13 Geschwülste. Verarbeitung analog wie bei d). Auch hier wurden 3 Preßsäfte gewonnen. Preßsaft Va = direkt beim Auspressen gewonnener Saft = 7,5 ccm; Vb nach vorheriger Vermischung mit 12 ccm physiologischer Kochsalzlösung, Menge 10 ccm; Vc = Preßsaft nach Zusatz von 13 ccm physiologischer Kochsalzlösung zum Rückstand des Preßsäftes Vb, Menge 7 ccm. Alle drei Preßsäfte wurden 16 Stunden bei 37° gehalten, bevor sie zur Anwendung kamen.

f) Preßsaft aus Tumoren — 63. Beim Auspressen von 28 Tumoren erhalten 9,0 ccm. Preßsaft = VI a. Der Preßrückstand wurde mit 35 ccm physiologischer Kochsalzlösung vermischt und wieder ausgepreßt — Preßsaft VI b = 27 ccm. Beide Preßsäfte wurden 16 Stunden bei 37° gehalten.

Beim Aufschneiden einiger Tumoren floß eine gelblich gefärbte Flüssigkeit (X) aus. Sie wurde aufgefangen und auch zur Spaltung verwendet, nachdem sie 16 Stunden bei 37° gehalten worden war.

g) Preßsaft aus Muskeln normaler Mäuse (XI). Die Muskeln von 10 Mäusen wurden sorgfältig herauspräpariert, mit physiologischer Kochsalzlösung blutfrei gewaschen und dann mit Sand und später mit Kieselgur verrieben. Erhalten 5,0 ccm Preßsaft. 16 Stunden bei 37° verdaut, dann filtriert. Preßsaft VII.

Erwähnt sei noch, daß die Preßsäfte stets unter Toluol aufbewahrt wurden, und daß wir die Lösungen der Polypeptide

und des Seidenpeptons mit physiologischer Kochsalzlösung herstellten. Manche Versuche wurden durch eintretende Trübungen gestört und viele ganz unbrauchbar. Um genaue Vergleiche anstellen zu können, wird es nötig sein, die verschiedenen Preßsäfte auf eine bestimmte Größe zu beziehen, sei es nun, daß der Trockenrückstand oder besser der Stickstoffgehalt als Grundlage gewählt wird.

1. Spaltung von l-Leucyl-diglycyl-glycin mit Hefepreßsaft. Gleiche Polypeptidmenge und verschiedene Fermentmenge.

1.			2.		
2,5 ccm $\frac{2}{10}$ -mol. Lösung. ($\frac{1}{20000}$ -mol. des Tetrapeptids.)			2,5 ccm $\frac{2}{10}$ -mol. Lösung.		
2,0 ccm physiol. Kochsalzlösung.			3,0 » physiol. Kochsalzlösung.		
2,0 » Preßsaft.			1,0 » Preßsaft.		
Zeit	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel	
10 Minuten	+ 0,79°	+ 0,67°	+ 0,82°	+ 0,76°	
20 »	+ 0,69°	+ 0,57°	+ 0,75°	+ 0,69°	
35 »	+ 0,59°	+ 0,47°	+ 0,69°	+ 0,63°	
50 »	+ 0,47°	+ 0,35°	+ 0,59°	+ 0,53°	
71 »	+ 0,36°	+ 0,24°	+ 0,49°	+ 0,43°	
90 »	+ 0,29°	+ 0,17°	+ 0,41°	+ 0,35°	
110 »	+ 0,22°	+ 0,10°	+ 0,34°	+ 0,28°	
130 »	+ 0,19°	+ 0,07°	+ 0,26°	+ 0,20°	
180 »	+ 0,04°	- 0,08°	+ 0,11°	+ 0,05°	
3 $\frac{2}{3}$ Stunden	+ 0,05°	- 0,07°			
5 $\frac{1}{3}$ »	+ 0,05°	- 0,07°			
10 $\frac{1}{2}$ »	+ 0,04°	- 0,08°			
11 Tage	+ 0,01°	- 0,11°			

3.			4.		
2,5 ccm $\frac{2}{10}$ -mol. Lösung.			2,5 ccm $\frac{2}{10}$ -mol. Lösung.		
3,5 » physiol. Kochsalzlösung.			3,75 » physiol. Kochsalzlösung.		
0,5 » Preßsaft.			0,25 » Preßsaft.		
Zeit	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel	Abgelesener Winkel	(keine Korrektur nötig.)	
18 Minuten	+ 0,87°	+ 0,85°	+ 0,91°		
120 »	+ 0,57°	+ 0,55°	+ 0,80°		
180 »	+ 0,45°	+ 0,43°	+ 0,77°		
300 »	+ 0,31°	+ 0,29°	+ 0,67°		

Zeit	Abgelesener Winkel	Abgelesener Winkel	Abgelesener Winkel (keine Korrektur nötig.)
5 1/2 Stunden	+ 0,25°	+ 0,23°	+ 0,66°
8 1/2 »	+ 0,09°	+ 0,07°	+ 0,56°
13 1/2 »	+ 0,02°	+ 0,00°	+ 0,47°
32 1/2 »	+ 0,02°	+ 0,00°	+ 0,19°
52 1/2 »	- 0,07°	- 0,09°	+ 0,02°
76 1/2 »	- 0,05°	- 0,07°	- 0,08°
100 »	- 0,07°	- 0,09°	- 0,06°

5.

2,5 ccm 2/10-mol. Lösung.
3,87 » physiol. Kochsalzlösung.
0,125 » Preßsaft.

6.

2,5 ccm 2/10-mol. Lösung.
3,93 » physiol. Kochsalzlösung.
0,062 » Preßsaft.

Zeit	Abgelesener Winkel (Keine Korrektur nötig.)	Abgelesener Winkel (Keine Korrektur nötig.)
18 Minuten	+ 0,93°	+ 0,91°
120 »	+ 0,88°	+ 0,94°
180 »	+ 0,86°	+ 0,90°
300 »	+ 0,83°	+ 0,91°
5 1/2 Stunden	+ 0,84°	+ 0,90°
8 1/2 »	+ 0,79°	+ 0,92°
13 1/2 »	+ 0,73°	+ 0,86°
32 1/2 »	+ 0,52°	+ 0,79°
52 1/2 »	+ 0,43°	+ 0,80°
76 1/2 »	+ 0,32°	+ 0,75°
100 »	+ 0,26°	+ 0,76°

Dieser Versuch zeigt, daß der Abbau des Tetrapeptids stets gleichsinnig verläuft, gleichgültig, ob man innerhalb der angegebenen Grenzen größere oder geringere Fermentmengen bei gleichbleibender Tetrapeptidmenge anwendet.

2. Spaltung von Seidenpepton mit Hefepreßsaft. Gleiche Menge des Seidenpeptons, verschiedene Menge des Fermentes.

1.

2,5 ccm 10%ige Lösung des Seidenpeptons (mit Phosphorwolframsäure gefällt).
2,0 ccm physiol. Kochsalzlösung.
2,0 » Hefepreßsaft.

2.

2,5 ccm der 10%igen Lösung des Seidenpeptons.
3,0 ccm physiol. Kochsalzlösung.
1,0 » Hefepreßsaft.

Zeit	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel
12 Minuten	— 0,63°	— 0,75°	— 0,84°	— 0,90°
57 „	— 0,33°	— 0,45°	— 0,65°	— 0,71°
87 „	— 0,33°	— 0,45°	— 0,52°	— 0,58°
162 „	trüb		— 0,43°	— 0,49°
220 „			— 0,35°	— 0,41°
310 „			— 0,32°	— 0,38°
350 „			— 0,28°	— 0,34°
5 1/2 Stunden			— 0,09°	— 0,15°
8 1/2 „			— 0,12°	— 0,18°
13 1/2 „			— 0,17°	— 0,23°
32 1/2 „			— 0,16°	— 0,22°
52 1/2 „	— 0,08°	— 0,20°	— 0,16°	— 0,22°
76 1/2 „			— 0,16°	— 0,22°
100 „			— 0,17°	— 0,23°

3.

4.

2,5 ccm 10% ige Lösung des Seidenpeptons.

2,5 ccm der 10% igen Lösung Seidenpeptons.

3,5 ccm physiol. Kochsalzlösung.

3,75 ccm physiol. Kochsalzlösung.

0,5 „ Hefepreßsaft.

0,25 „ Hefepreßsaft.

Zeit	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel
12 Minuten	— 0,98°	— 1,01°	— 1,07°	— 1,08°
57 „	— 0,86°	— 0,89°	— 1,00°	— 1,01°
87 „	— 0,77°	— 0,80°	— 0,88°	— 0,89°
162 „	— 0,65°	— 0,68°	— 0,78°	— 0,79°
220 „	— 0,56°	— 0,59°	— 0,73°	— 0,74°
310 „	— 0,52°	— 0,55°		
350 „	— 0,50°	— 0,53°	— 0,67°	— 0,68°
5 1/2 Stunden	— 0,35°	— 0,38°	— 0,58°	— 0,59°
8 1/2 „	— 0,34°	— 0,37°	— 0,56°	— 0,57°
13 1/2 „	— 0,29°	— 0,32°	— 0,49°	— 0,50°
32 1/2 „	— 0,26°	— 0,29°	— 0,31°	— 0,32°
52 1/2 „	— 0,27°	— 0,30°	— 0,29°	— 0,30°
76 1/2 „	— 0,24°	— 0,27°	— 0,30°	— 0,31°
100 „	— 0,25°	— 0,28°	— 0,27°	— 0,28°

Dieser Versuch zeigte das gleiche Resultat wie Versuch 1.

3. Vergleichende Spaltung von dl-Leucyl-glycin, Glycyl-l-tyrosin und Seidenpepton mit Hefepreßsaft.

dl-Leucyl-glycin.			Glycyl-l-tyrosin.		
5,0 ccm $\frac{2}{10}$ -mol. Lösung von dl-Leucyl-glycin ($\frac{1}{2000}$ -mol. des l-Leucyl-glycins).			2,5 ccm $\frac{2}{10}$ -mol. Lösung des Dipeptids.		
0,5 ccm physiol. Kochsalzlösung.			3,0 > physiol. Kochsalzlösung.		
1,0 > Preßsaft.			1,0 > Preßsaft.		
Zeit	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel	
Minuten					
11	- 0,43°	- 0,49°	+ 0,72°	+ 0,66°	
26	- 0,75°	- 0,81°	+ 0,66°	+ 0,60°	
38	- 1,05°	- 1,11°	+ 0,56°	+ 0,50°	
54	- 1,13°	- 1,19°	+ 0,48°	+ 0,42°	
75	- 1,14°	- 1,20°	+ 0,35°	+ 0,29°	
94			+ 0,24°	+ 0,18°	
117			+ 0,14°	+ 0,08°	
140					
190			trüb		

Seidenpepton.

5,0 ccm 10%ige Seidenpeptonlösung (mit Phosphorwolframsäure gefällt.)
 0,5 > physiol. Kochsalzlösung.
 1,0 > Preßsaft.

Zeit	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel
11 Minuten	- 1,91°	- 1,97°
26 >	- 1,80°	- 1,86°
38 >	- 1,74°	- 1,80°
54 >	- 1,65°	- 1,71°
75 >	- 1,58°	- 1,64°
94 >	- 1,54°	- 1,60°
117 >	- 1,46°	- 1,52°
140 >	- 1,39°	- 1,45°
190 >	- 1,11°	- 1,17°
3 $\frac{2}{3}$ Stunden	- 1,05°	- 1,11°
8 $\frac{1}{3}$ >	- 0,72°	- 0,78°
10 $\frac{1}{2}$ >	- 0,70°	- 0,76°
26 $\frac{1}{2}$ >	- 0,38°	- 0,44°
11 Tage	- 0,31°	- 0,37°

Dieser Versuch zeigt, daß Hefepreßsaft dl-Leucyl-glycin am raschesten abbaut, dann folgt Glycyl-l-tyrosin. Am langsamsten wird Seidenpepton zerlegt. Hier spielt die Hemmung durch die Spaltprodukte ohne Zweifel eine große Rolle.

4. Spaltung von dl-Leucyl-glycin und von Glycyl-l-tyrosin mit Leberpreßsaft von normalen Mäusen (Preßsaft I).

1.			2.		
dl-Leucyl-glycin.			Glycyl-l-tyrosin		
5,0 ccm	$\frac{2}{10}$ -mol. Lösung ($\frac{1}{2000}$ -mol. des l-Leucyl-glycins).		6,0 ccm	einer Lösung, welche $\frac{1}{1000}$ -mol. des Dipeptids enthält.	
0,5	» Preßsaft.		0,5	» Preßsaft.	
1,0	» physiol. Kochsalzlösung.		0,5	» physiol. Kochsalzlösung.	
	Abgelesener	Korrigierter		Abgelesener	Korrigierter
Zeit	Winkel	Winkel	Zeit	Winkel	Winkel
40 Minuten	+ 0,09°	0,00°	40 Minuten	+ 1,52°	+ 1,43°
4 Tage	- 0,06°	- 0,15°	3 Tage	+ 1,46°	+ 1,37°
15 »	- 0,39°	- 0,48°	15 »	braun gefärbt, Ablesung unmöglich.	

Der Versuch zeigt, daß Leberpreßsaft dl-Leucyl-glycin spaltet. Auch Glycyl-l-tyrosin wird angegriffen, jedoch nur sehr langsam.

5. Spaltung von dl-Leucyl-glycin, Glycyl-l-tyrosin und l-Leucyl-diglycyl-glycin mit Preßsaft von Muskeln normaler Mäuse (Preßsaft XI).

1.			2.		
dl-Leucyl-glycin.			Glycyl-l-tyrosin.		
5,0 ccm	$\frac{2}{10}$ -mol. Lösung ($\frac{1}{2000}$ -mol. des l-Leucyl-glycins).		2,5 ccm	$\frac{2}{10}$ -mol. Lösung ($\frac{1}{2000}$ -mol. des Glycyl-l-tyrosins).	
0,5 ccm	Preßsaft.		0,5 ccm	Preßsaft.	
1,0	» physiol. Kochsalzlösung.		3,5	» physiol. Kochsalzlösung.	
	Abgelesener	Korrigierter		Abgelesener	Korrigierter
Zeit	Winkel	Winkel	Zeit	Winkel	Winkel
20 Minuten	- 0,03°	- 0,01°		+ 0,74°	+ 0,76°
5 1/2 Stunden	- 0,02°	0,00°		+ 0,73°	+ 0,75°
21 »	- 0,12°	- 0,10°		+ 0,72°	+ 0,74°
2 Tage	- 0,25°	- 0,23°		+ 0,66°	+ 0,68°

3.

l-Leucyl-diglycyl-glycin.		
2,5 ccm	$\frac{2}{10}$ -mol. Lösung ($\frac{1}{2000}$ -mol. des Tetrapeptids).	
0,5	» Preßsaft.	
3,5	» physiol. Kochsalzlösung.	
	Abgelesener	Korrigierter
Zeit	Winkel	Winkel
20 Minuten	trübe	—
5 1/2 Stunden	»	—
21 »	+ 0,86°	+ 0,88°
2 Tage	+ 0,85°	+ 0,87°

Muskelpreßsaft spaltet dl-Leucyl-glycin am raschesten, langsamer Glycyl-l-tyrosin. l-Leucyl-diglycyl-glycin wird kaum angegriffen.

6. Spaltung von dl-Leucyl-glycin mit Preßsaft aus der Leber von Mäusen, die Tumoren besaßen. Preßsaft II.

- 5 ccm $\frac{2}{10}$ -mol. Lösung des Dipeptids.
($\frac{1}{20000}$ -mol. des l-Leucyl-glycins.)
- 1,0 » Preßsaft.
- 0,5 » physiol. Kochsalzlösung.

Zeit	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel
10 Minuten	— 0,01°	— 0,00°
17 Stunden	— 0,02°	— 0,01°
20 $\frac{1}{4}$ »	— 0,13°	— 0,12°
41 »	— 0,22°	— 0,21°
3 Tage	— 0,31°	— 0,30°
4 »	— 0,43°	— 0,42°
5 »	— 0,48°	— 0,47°
13 »	— 1,09°	— 1,08°

Dieser Preßsaft spaltete etwas rascher als Leberpreßsaft von normalen Mäusen. Selbstverständlich sind die Fehlerquellen noch zu groß, um direkt Vergleiche anstellen zu können. Vor allen Dingen fehlt noch eine Basis zur Beurteilung der Konzentration der angewandten Preßsäfte.

7. Spaltung von dl-Leucyl-glycin und von Glycyl-l-tyrosin mit Preßsaft aus Tumor $^{63}/_{29}$ C. Preßsaft IIIa und b.

- | | |
|---|--|
| <p>1.</p> <p>dl-Leucyl-glycin und Tumorsaft Ia.</p> <p>5,0 ccm $\frac{2}{10}$-mol. Lösung des Dipeptids.
($\frac{1}{20000}$-mol. l-Leucyl-glycin.)</p> <p>0,2 » Preßsaft.</p> <p>1,3 » physiol. Kochsalzlösung.</p> | <p>2.</p> <p>Glycyl-l-tyrosin und Tumorsaft Ia.</p> <p>4,7 ccm $\frac{2}{10}$-mol. Lösung des Dipeptids.</p> <p>0,2 » Preßsaft.</p> <p>2,3 » physiol. Kochsalzlösung.</p> |
|---|--|

1.		2.	
Zeit	Korrigierter Winkel	Zeit	Korrigierter Winkel
10 Minuten	+ 0,00°	10. Minuten	+ 1,24°
22 »	— 0,25°	47 »	+ 1,21°
47 »	— 0,40°	4 $\frac{1}{4}$ Tage	+ 1,06°
102 »	— 0,54°	7 »	+ 0,96°
5 Tage	— 0,62°		
6 $\frac{1}{4}$ »	— 0,68°		

3.

dl-Leucyl-glycin und Tumorsaft Ib.

5,0 ccm $\frac{1}{10}$ -mol. Lösung des Dipeptids.($\frac{1}{20000}$ -mol. l-Leucyl-glycin.)

1,0 » Preßsaft.

0,5 » physiol. Kochsalzlösung.

Zeit	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel
10 Minuten	— 0,05°	0,00°
17 »	— 1,16°	— 1,11°
27 »	— 1,22°	— 1,17°
6 Tage	— 1,19°	— 1,14°

Der angewandte Preßsaft spaltete dl-Leucyl-glycin rasch und Glycyl-l-tyrosin langsamer. Der Versuch zeigt ferner, daß nach Wiederholung des Auspressens nach Zugabe von physiologischer Kochsalzlösung noch recht aktiver Preßsaft erhalten werden kann (vgl. Versuch 3).

8. Spaltung von dl-Leucyl-glycin mit Preßsaft von Tumoren $63/29^{\circ}\text{C}$.
(Preßsaft IV a, b, c.)

1.

5,0 ccm $\frac{1}{10}$ -mol. Lösung von dl-Leucyl-glycin.

1,0 » Preßsaft IVa.

0,5 » physiol. Kochsalzlösung.

2.

5,0 ccm $\frac{1}{10}$ -mol. Lösung von dl-Leucyl-glycin.

1,0 » Preßsaft IVb.

0,5 » physiol. Kochsalzlösung.

Zeit	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel
10 Minuten	— 0,06°	0,00°	— 0,03°	0,00°
46 Stunden	— 1,18°	— 1,12°	— 0,20°	— 0,17°
3 Tage	— 1,20°	— 1,14°	— 0,27°	— 0,24°
4 »	—	—	— 0,34°	— 0,31°
5 »	— 1,16°	— 1,10°	— 0,40°	— 0,37°

3.

5,0 ccm $\frac{1}{10}$ -mol. Lösung des rac. Leucyl-glycins.

1,0 » Preßsaft IVc.

0,5 » physiol. Kochsalzlösung.

Zeit	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel
10 Minuten	0,00°	0,00°
46 Stunden	— 0,03°	— 0,03°
3 Tage	— 0,02°	— 0,02°

Aus diesem Versuch geht deutlich hervor, daß in die zweite Auslaugung des Preßrückstandes (IV c) nur noch Spuren von Fermenten übergehen. Es genügt somit, den Preßsaft in zwei Malen aufzufangen, einmal ohne Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung und dann nach Zusatz. Hervorgehoben sei die Raschheit, mit der die Spaltung vor sich ging.

9. Spaltung von l-Leucyl-diglycyl-glycin und von Seidenpepton mit Saft aus Tumor ⁶³/₂₉C. Preßsaft IV a.

l-Leucyl-diglycyl-glycin.			Seidenpepton.		
5,0 ccm	² / ₁₀ -mol. Lösung des Tetra-peptids.		5,0 ccm	10 % ige Seidenpeptonlösung.	
1,0	» Preßsaft.		1,0	» Preßsaft.	
0,5	» physiol. Kochsalzlösung.		1,0	» physiol. Kochsalzlösung.	
Zeit	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel	Zeit	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel
30 Minuten	+ 1,74°	+ 1,80°	7 Minuten	- 2,09°	- 2,03°
18 Stunden	Trübung		40 »	- 2,08°	- 2,02°
41 »	+ 1,40°	+ 1,46°	120 »	- 2,06°	- 2,00°
65 »	+ 1,34°	+ 1,40°	5 1/2 Stunden	- 2,02°	- 1,96°
7 Tage	+ 1,20°	+ 1,30°	24 »	- 1,98°	- 1,92°
			78 »	- 1,66°	- 1,60°
			4 Tage	- 1,62°	- 1,56°

10. Spaltung von dl-Leucyl-glycin, Glycyl-l-tyrosin und l-Leucyl-diglycyl-glycin mit Tumorsaft IV a.

dl-Leucyl-glycin.			Glycyl-l-tyrosin.		
5,0 ccm	² / ₁₀ -mol. Lösung		5,0 ccm	² / ₁₀ -mol. Lösung.	
(¹ / ₂₀₀₀ -mol. des l-Leucyl-glycins).			(¹ / ₁₀₀₀ -mol. des Glycyl-l-tyrosins).		
1,0 ccm	Preßsaft.		1,0 ccm	Preßsaft.	
0,5	» physiol. Kochsalzlösung.		0,5	» physiol. Kochsalzlösung.	
Zeit	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel	Zeit	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel
12 Minuten	- 0,09°	- 0,02°		+ 1,46°	+ 1,52°
30 »	- 0,12°	- 0,06°		+ 1,46°	+ 1,52°
55 »	- 0,20°	- 0,14°		+ 1,44°	+ 1,50°
220 »	- 0,39°	- 0,33°		Trübung	
330 »	- 0,54°	- 0,48°		»	
21 Stunden	- 1,16°	- 1,10°		+ 1,18°	+ 1,24°
24 1/2 »	- 1,24°	- 1,18°		+ 1,16°	+ 1,22°
48 »	- 1,23°	- 1,17°		+ 0,97°	+ 1,03°
96 »				+ 0,81°	+ 0,87°

l-Leucyl-diglycyl-glycin.

5,0 ccm $\frac{2}{10}$ -mol. Lösung des Tetrapeptids
($\frac{1}{1000}$ -mol. Tetrapeptid).

1,0 > Preßsaft.

1,0 > physiol. Kochsalzlösung.

Zeit	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel
12 Minuten	+ 1,66°	+ 1,72°
30 >	Trübung	
55 >	>	
220 >	>	
330 >	>	
21 Stunden	+ 1,65°	+ 1,71°
24 $\frac{1}{2}$ >	+ 1,63°	+ 1,69°
48 >	+ 1,51°	+ 1,57°
96 >	+ 1,44°	+ 1,50°

11. Spaltung von dl-Leucyl-glycin und von l-Leucyl-diglycyl-glycin mit Tumorsaft V a, b, c ($\frac{22}{25}$ a).

1.

dl-Leucyl-glycin und Preßsaft V a.
5,0 ccm $\frac{2}{10}$ -mol. Lösung von dl-Leucyl-glycin.

($\frac{1}{2000}$ -mol. l-Leucyl-glycin.)

1,0 ccm Preßsaft.

0,5 > physiol. Kochsalzlösung.

Zeit	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel
10 Minuten	— 0,05°	— 0,02°
28 Stunden	— 0,35°	— 0,32°
46 >	— 0,46°	— 0,43°
3 Tage	— 0,60°	— 0,57°
4 >	— 0,74°	— 0,71°
5 >	— 0,79°	— 0,76°

3.

dl-Leucyl-glycin und Preßsaft V c.

5,0 ccm $\frac{2}{10}$ -mol. Lösung.

($\frac{1}{2000}$ -mol. l-Leucyl-glycin.)

1,0 > Tumorsaft.

0,5 > physiol. Kochsalzlösung.

2.

dl-Leucyl-glycin und Preßsaft V b.
5,0 ccm $\frac{2}{10}$ -mol. Lösung.

($\frac{1}{2000}$ -mol. l-Leucyl-glycin.)

1,0 ccm Preßsaft.

0,5 > physiol. Kochsalzlösung.

Zeit	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel
10 Minuten	— 0,02°	0,00°
28 Stunden	— 0,39°	— 0,37°
46 >	— 0,45°	— 0,43°
3 Tage	— 0,46°	— 0,44°
4 >	— 0,50°	— 0,48°
5 >	— 0,53°	— 0,51°

4.

l-Leucyl-diglycyl-glycin und
Preßsaft V a.

5,0 ccm $\frac{2}{10}$ -mol. Lösung.

($\frac{1}{1000}$ -mol. Tetrapeptid.)

1,0 > Tumorsaft.

0,5 > physiol. Kochsalzlösung.

Zeit	Abgelesener		Korrigierter		Zeit	Abgelesener		Korrigierter	
	Winkel	Winkel	Winkel	Winkel		Winkel	Winkel	Winkel	Winkel
10 Minuten	+ 0,02°		0,00°		30 Minuten	+ 1,77°		+ 1,80°	
28 Stunden	- 0,01°		- 0,03°		18 Stunden	+ 1,65°		+ 1,68°	
46 „	- 0,00°		- 0,02°		4 Tage	+ 1,66°		+ 1,69°	
3 Tage	- 0,01°		- 0,03°		14 „	+ 1,65°		+ 1,68°	

12. Spaltung von dl-Leucyl-glycin mit Preßsaft VIa (verschiedene Mengen des Fermentes und gleiche Dipeptidmenge).

1.			2.		
5,0 ccm $\frac{2}{10}$ -mol. Lösung.			5,0 ccm $\frac{2}{10}$ -mol. Lösung.		
1,0 „ Preßsaft VI a.			0,5 „ Preßsaft VI a.		
0,5 „ physiol. Kochsalzlösung.			1,0 „ physiol. Kochsalzlösung.		
Zeit	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel	
13 Minuten	- 0,12°	- 0,01°	- 0,05°	0,00°	
45 „	trüb		trüb		
400 „	„		- 0,29°	- 0,24°	
22 Stunden	„		- 0,64°	- 0,59°	
50 „	- 1,17°	- 1,06°	- 0,99°	- 0,94°	
70 „	- 1,26°	- 1,15°	- 1,15°	- 1,10°	

3.

5,0 ccm $\frac{2}{10}$ -mol. Lösung.
 0,25 „ Preßsaft VI a.
 1,25 „ physiol. Kochsalzlösung.

Zeit	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel
13 Minuten	- 0,02°	0,00°
45 „	- 0,01°	+ 0,01°
400 „	- 0,08°	- 0,06°
22 Stunden	- 0,26°	- 0,24°
50 „	- 0,53°	- 0,51°
70 „	- 0,64°	- 0,62°

13. Spaltung von dl-Leucyl-glycin mit Preßsaft VIb (gleiche Dipeptidmenge und wechselnde Fermentmenge).

1.		2.	
5,0 ccm $\frac{2}{10}$ -mol. Lösung.		5,0 ccm $\frac{2}{10}$ -mol. Lösung.	
1,5 „ Preßsaft VIb.		1,0 „ Preßsaft VIb.	
		0,5 „ physiol. Kochsalzlösung.	

Zeit	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel
25 Minuten	— 0,06°	— 0,02°	— 0,04°	— 0,02°
120 „	— 0,07°	— 0,03°	— 0,06°	— 0,04°
7½ Stunden	— 0,18°	— 0,14°	— 0,12°	— 0,10°
22 „	— 0,38°	— 0,34°	— 0,29°	— 0,27°
50 „	— 0,68°	— 0,64°	— 0,42°	— 0,40°
70 „	— 0,85°	— 0,81°	— 0,57°	— 0,55°

3.

5,0 ccm $\frac{2}{10}$ -mol. Lösung.
 0,5 „ Preßsaft VI b.
 1,0 „ physiol. Kochsalzlösung.

Zeit	Abgelesener Winkel	Keine Korrektur nötig
25 Minuten	0,00°	nötig
120 „	— 0,02°	
7½ Stunden	— 0,03°	
22 „	— 0,09°	
50 „	— 0,21°	
70 „	— 0,28°	

4.

5,0 ccm $\frac{2}{10}$ -mol. Lösung.
 0,25 „ Preßsaft VI b.
 1,25 „ physiol. Kochsalzlösung.

Zeit	Abgelesener Winkel	Keine Korrektur nötig
25 Minuten	0,00°	nötig
120 „	0,00°	
7½ Stunden	0,00°	
22 „	— 0,04°	
50 „	— 0,10°	
70 „	— 0,14°	

14. Vergleichende Spaltung von dl-Leucyl-glycin, Glycyl-l-tyrosin, Seidenpepton und l-Leucyl-diglycyl-glycin mit Preßsaft VI a.

1.

dl-Leucyl-glycin.

5,0 ccm $\frac{2}{10}$ -mol. Lösung.
 ($\frac{1}{2000}$ -mol. des l-Leucyl-glycins.)
 0,5 ccm Preßsaft.
 1,0 „ physiol. Kochsalzlösung.

Zeit	Korrigierter Winkel
13 Minuten	0,00°
400 „	— 0,24°
22 Stunden	— 0,59°
50 „	— 0,94°
70 „	— 1,15°

2.

Glycyl-l-tyrosin.

2,5 ccm $\frac{2}{10}$ -mol. Lösung.
 ($\frac{1}{2000}$ -mol. des Dipeptids.)
 0,5 ccm Preßsaft.
 3,5 „ physiol. Kochsalzlösung.

Zeit	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel
20 Minuten	+ 0,70°	+ 0,75°
5½ Stunden	trüb	
21 „	+ 0,56°	+ 0,61°
2 Tage	+ 0,45°	+ 0,50°

3.

Seidenpepton

(mit Phosphorwolframsäure gefälltes).
 2,5 ccm 10% iges Seidenpepton.
 0,5 „ Preßsaft.
 3,5 „ physiol. Kochsalzlösung.

4.

l-Leucyl-diglycyl-glycin.

2,5 ccm $\frac{2}{10}$ -mol. Lösung.
 ($\frac{1}{2000}$ -mol. des Dipeptids.)
 0,5 ccm Preßsaft.
 3,5 „ physiol. Kochsalzlösung.

Zeit	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel
20 Minuten	— 1,02°	— 0,97°	+ 0,93°	+ 0,98°
5 1/2 Stunden	trüb		+ 0,92°	+ 0,98°
21 „	„		+ 0,90°	+ 0,95°
2 Tage	— 0,75°	— 0,70°	+ 0,85°	+ 0,90°

Versuch 11 zeigt, daß der Preßsaft V a und b lebhaft dl-Leucyl-glycin spaltet, während Preßsaft V c kaum mehr eine Wirkung zeigt. l-Leucyl-diglycyl-glycin wird sehr langsam abgebaut. Aus Versuch 12 geht hervor, daß bei Anwendung größerer Fermentmengen die Spaltung von dl-Leucyl-glycin rascher erfolgt. Versuch 13 ergab das gleiche Resultat.

15. Spaltung von dl-Leucyl-glycin durch die aus Tumoren gewonnene Flüssigkeit (X).

- 5,0 ccm $\frac{2}{10}$ -mol. Lösung von dl-Leucyl-glycin.
($\frac{1}{5000}$ -mol. des l-Leucyl-glycins.)
- 0,25 „ der Tumorflüssigkeit.
- 1,24 „ physiol. Kochsalzlösung.

Zeit	Abgelesener Winkel	Korrigierter Winkel
10 Minuten	— 0,10°	0,00°
70 Stunden	— 0,43°	— 0,33°

Der aus den Tumoren ausfließende Saft enthielt somit peptolytische Fermente.