

# Virchows Archiv

für  
pathologische Anatomie und Physiologie  
und für  
klinische Medizin.

Band 183. (Achtzehnte Folge Bd. III.) Heft 2.

---

## IX.

### Zur Kenntnis der Antifermente.

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Berlin.)

Von

H. Beitzke und C. Neuberg.

---

Fast alle normalen Stoffwechselvorgänge der Organismen werden durch Fermente geregelt. Um diese Aufgabe zu erfüllen, haben die Enzyme den Charakter spezifischer Katalysatoren; mit letzterem zusammen hängt die Fähigkeit zur Bildung von immunisatorisch erzeugbaren Antikörpern. Diese Eigenschaft setzt bis zu einem gewissen Grade die Fermente und Antifermente in Parallele mit den Toxinen und ihren Antikörpern und gestattet in mancher Hinsicht die Anwendung von Ehrlichs allbekannten fruchtbaren Ergebnissen der Immunitätsforschung auf einige der hier interessierenden Probleme.

Als eines der bedeutungsvollsten Resultate der Lehre von den Fermentwirkungen wird jederzeit die experimentelle Erfüllung einer von G. Tammann<sup>1)</sup> theoretisch vor Jahren abgeleiteten Forderung gelten, daß es möglich sein müsse, aus den fermentativen Spaltungsprodukten durch Zusatz von Enzym die Ausgangssubstanz wieder aufzubauen.

Die Verwirklichung dieses Gedankens gelang im Jahre 1898 Crofts Hill<sup>2)</sup> in seinen berühmt gewordenen Versuchen über die Synthese eines Disacharids aus Traubenzucker und

1) G. Tammann, Zeitschr. f. physiolog. Chem. 16, 276 (1892).

2) Journ. chem. Society 73, 634.

Hefenmaltase. Das Enzym Maltase, das in verdünnten Lösungen das Disacharid Maltose in zwei Moleküle Traubenzucker spaltet, regeneriert in konzentrierten Lösungen von Glukose wieder ein Disacharid.

Solche reversible Fermentprozesse sind seitdem mehrfach beobachtet worden. In der Kohlehydratreihe verwirklichten Emil Fischer und Armstrong<sup>1)</sup> unter dem Einfluß von Kefirlaktase die Bildung eines Disacharids aus Traubenzucker und Galaktose, das dem Milchzucker nahesteht, resp. mit ihm identisch ist, und Emmerling<sup>2)</sup> erzielte durch Maltase die Wiedervereinigung des Mandelnitrilglukosids mit Traubenzucker zum Amygdalin.

In der Fettreihe vermag das esterspaltende Enzym, die Lipase oder das Steapsin, nach Kastle und Loevenhart<sup>3)</sup> gleichfalls reversible Leistungen zu vollbringen, z. B. konstatierten die Autoren eine Bildung von Buttersäure-Äthylester aus den Komponenten unter dem Einfluß des esterspaltenden Enzyms.

Etwas komplizierter liegen die Verhältnisse bei den Eiweißkörpern. Eine ausgesprochene reversible Wirkung der proteolytischen Enzyme Trypsin und Pepsin ist nicht beobachtet, aber die sogenannte Plasteinreaktion (Danilewsky, Okunew, Lawrow, Kurajew), die Bildung größerer Komplexe aus Verdauungslösungen unter dem Einfluß von Lab oder Papayotin, ist vielleicht ein der Fermentsynthese ähnlicher Vorgang.

Von bestimmten theoretischen Erwägungen aus ist nun die Frage nicht ohne Interesse: Können die Antifermente irgendwie reversible Vorgänge bewirken? Bei den umkehrbaren Fermentprozessen handelt es sich um Gleichgewichtszustände, deren Verschiebung nach der einen oder anderen Seite Abbau oder Synthese zur Folge hat. Ohne irgendwelche Voraussetzungen über die Natur der Antifermente zu machen, könnte man sich z. B. vorstellen, daß sie, der Fermenthydrolyse entgegenwirkend, befähigt sind, das Gleichgewicht nach der Seite des Aufbaues zu verschieben.

<sup>1)</sup> Ber. d. dtsh. chem. Ges. 34, 3810 (1902).

<sup>2)</sup> Sitzungsber. d. kgl. Pr. Akad. d. Wissensch. 1901. VII. 123.

<sup>3)</sup> Americ. chemical Journ. 24, 491 (1901).

Für die Versuche in dieser Richtung haben wir zunächst die immunisatorisch erzeugten, streng spezifischen Antifermente benutzt. Nur diese sind wohl „Antikörper“ im eigentlichen Sinne Ehrlichs, während die aus irgendwelchen Gründen dem Fermentprozeß entgegenwirkenden, nicht immunisatorisch<sup>1)</sup> gewinnbaren Substanzen besser als „Hemmungskörper“ bezeichnet werden.

Wie im folgenden beschrieben ist, haben wir mit Anti-emulsinserum die Bildung eines Disacharids aus Traubenzucker und Galaktose erzielen können, d. h. es entstand ein Disacharid aus zwei einfachen Zuckern, in die gerade umgekehrt durch das zur Immunisierung angewandte Enzym ein Disacharid zerfällt.

Wir haben entsprechende Versuche mit Antilipaseserum angestellt, indem wir dasselbe bei neutraler wie saurer Reaktion auf ein Gemisch von Glycerin und Ölsäure einwirken ließen. In beiden Fällen war der Erfolg negativ.

Bei der Schwierigkeit, immunisatorisch größere Quantitäten von Antifermenten zu gewinnen (siehe die folgenden Angaben), glauben wir, unsere noch spärlichen Daten veröffentlichen zu dürfen, um uns das Recht zur Fortsetzung unserer Versuche über Antifermentsera in der angegebenen Richtung zu wahren.

Von besonderer Wichtigkeit scheint uns die Frage, ob die synthetisierende Kraft von Antifermentseris eine allgemeiner verbreitete Reaktion ist. Auf keinem Gebiete beweisen Versuche mit negativem Erfolge weniger als auf dem der Serumerscheinungen; daß mit Antilipaseserum keine Synthese nachgewiesen werden konnte, kann die allerverschiedensten Gründe haben, vor allem muß der Versuch mit anderen Substraten angestellt werden, da vielleicht weder Glycerin noch ölsaures Natrium für den Antikörper indifferent sind.

Möglicherweise wird man durch weitere Versuche zu der Annahme gelangen, daß tatsächlich es eine Aufgabe der Antikörper ist, wiederherstellend zu wirken auf das, was von den

<sup>1)</sup> Z. B. durch Erhitzen. Pollack fand (B. z. chem. Physiol. und Pathol. 5, 94), daß beim Erwärmen von Trypsinlösung eine die Pankreaswirkung hemmende Substanz entsteht. Ähnliches konstatierte Schwarz (ebendas. 6, 524) für das Pepsin.

die Immunisierung auslösenden Giften, den Antigenen, geschädigt ist.

Es ist aber denkbar, daß der Zusammenhang zwischen dem Enzym und den synthetisierenden Fähigkeiten des Antiserums viel komplizierter ist. Wenn auch — wie M. Jacoby<sup>1)</sup> jüngst auseinandergesetzt hat — die Beziehungen zwischen den Fermenterscheinungen und den Toxinvorgängen vielfach nur rein formal sind, kann man sich doch im Rahmen der Ehrlichschen Lehren beispielsweise folgende Vorstellung machen.

Bei der Immunisierung mit Emulsin greift das Enzym sein Substrat an. Dieses findet sich u. a. in den Zellen, denen seine Bereitung obliegt; letztere erfolgt wahrscheinlich auch durch einen fermentativen Vorgang. Bei der Anlagerung des Emulsins an die Zelle wird u. a. durch Beschlaglegung des vorhandenen Emulsinbinders auch ein Reiz auf die Neubildung des in der Norm den Emulsinbinder erzeugenden Prinzips ausgeübt, und es kommt zum Übertritt von sonst nicht frei vorhandenen Zellbestandteilen in das Serum. Diese Erscheinung kann unabhängig von der Bildung des eigentlichen Antiemulsins zustande kommen. Im folgenden wird zwar gezeigt, daß Antiemulsin- wie synthetisierende Wirkung beide an der Globulinfraction haften, doch spricht das allein nicht für die Identität der beiden Prinzipien.

Als normal im Organismus der Säugetiere vorhandener Emulsinbinder kommt übrigens nicht allein der Milchzucker in Betracht, für den ja auch, selbst wenn er nicht manifest wird, latente Quellen existieren werden. Emulsinbinder sind auch die gepaarten Glukuronsäuren, deren Fähigkeit zur Reaktion mit Emulsin früher von Neuberg und Neimann aufgefunden und jüngst von Hildebrandt bestätigt ist. Die gepaarten Glukuronsäuren sind aber normale Bestandteile des Organismus,<sup>2)</sup> speziell des Blutes<sup>3)</sup> und der Organe.<sup>4)</sup>

1) Immunität und Disposition. Wiesbaden 1906. S. 89.

2) C. Neuberg und C. Mayer, Zeitschr. für physiol. Chem. 29, 256 (1900).

3) Paul Mayer, Zeitschr. für physiolog. Chem. 32, 518 (1901).

4) R. Lépine, Comp. rend. de l'Acad. 133, 138 (1901) und 134, 398 (1902). — M. Bial, Zeitschr. für physiolog. Chem. 45, 258 (1950).

### Experimenteller Teil.

Als erster hat bekanntlich Hildebrandt<sup>1)</sup> im Jahre 1893 ein Antiemulsin hergestellt. Er benutzte als Versuchstier das Kaninchen, und zwar berichtet er, daß ihm zahlreiche Tiere durch Fermentintoxikation zugrunde gingen; er konnte schließlich nur dadurch zum Ziele gelangen, daß er das Emulsin per rectum einführte und den Anus jedesmal einige Zeit durch eine Klemme verschloß. Wir immunisierten ebenfalls Kaninchen, haben aber derartige Schwierigkeiten nicht gehabt. Die von uns verwandte Emulsinlösung wurde in der Weise hergestellt, daß wir das käufliche Kahlbaumsche Präparat 20 Stunden lang bei 38° mit Toluolwasser extrahierten und sodann filtrierten. Das so gewonnene, fast klare Filtrat spaltete Amygdalin äußerst kräftig. Die beiden Tiere erhielten in Zwischenräumen von 6 bis 8 Tagen je 5 bis 10 ccm der jedesmal frisch bereiteten Lösung subcutan injiziert. Die Injektion wurde gut vertragen; die Tiere blieben munter und nahmen nicht oder fast nicht an Gewicht ab. Jedes Tier erhielt auf diese Weise nach und nach 90 ccm der Emulsinlösung. 8 Tage nach der letzten Injektion wurde entblutet und das Serum auf die übliche Weise gewonnen.

Um den Antikörper des Emulsininimmunserums in eine für synthetische Versuche brauchbare Form zu bringen, versuchten wir, denselben durch Salzfällung in einer Fraktion anzureichern. Dabei verfahren wir im wesentlichen nach den Angaben, die E. P. Pick (Beitr. z. chem. Physiol. f. Pathol. I, 351 [1903]) für die Isolierung bakterieller Immunkörper gemacht hat. Bei den viel geringeren uns zur Verfügung stehenden Serummengen vom Kaninchen, beschränkten wir uns darauf, die Globulinfraktion in toto abzuseiden und keine weitere Trennung in die ja überhaupt nicht völlig scharf gegeneinander abgegrenzten Fraktionen des Eu- und Pseudoglobulins vorzunehmen.

Das aus den erhaltenen 30,5 ccm Serum ausgefällte und ausgewaschene Globulin wurde sofort mit 15 ccm sterilem Wasser in ein Erlenmeyerkölbchen gespült, wobei sich ein Teil löste. Von der durch Schütteln

<sup>1)</sup> Hildebrandt, Dies. Arch. Bd. 131.

möglichst homogen gemachten, mit Toluol konservierten Flüssigkeit wurden 3,0 ccm abpipettiert und auf 15 ccm aufgefüllt.

Diese Lösung diente zur Prüfung auf Emulsin- wie Antiemulsinwirkung. Für den letzten Zweck benutzten wir eine in der schon erwähnten Weise frisch dargestellte Emulsinlösung. Dieselbe wurde auf zehnfache verdünnt, eine Prüfung gegen Amygdalin zeigte ihre prompte Wirksamkeit bei 0,5 ccm. Dasselbe Quantum, mit 5 und 3 ccm der Antiemulsinsuspension versetzt, war ohne Einfluß auf das als Indikator dienende Glukosid.

Zeigte dieser Versuch bereits die Abwesenheit von unveränderten Emulsinresten im Serum des damit vorbehandelten Tieres, so haben wir trotzdem mit je 1,5 und 2,5 ccm der erwähnten Globulinsuspension auf spaltende Wirkung gegenüber Amygdalin geprüft. Weder bei Zimmertemperatur noch bei 38° trat der charakteristische Geruch oder Reduktionsfähigkeit auf.

Das also erwiesenermaßen antiemulsinhaltige Serum diente zur Ausführung des angegebenen Versuchs. In die restierenden 12 ccm der Suspension wurden je 3,0 g reinste, mehrfach umkristallisierte d-Glukose und d-Galaktose, die beide staubfein gepulvert waren, eingetragen und zur Lösung 2 Stunden auf der Maschine geschüttelt.

Die Mischung wurde nun bei 38 bis 39° in einem Fläschchen in den Brutschrank gestellt und täglich mehrfach geschüttelt, da sich die unlöslichen Reste der Globuline bald zu Boden senkten. Von der überstehenden klaren Flüssigkeit wurde nach 8 Tagen 1,0 ccm abpipettiert, mit Wasser auf 10 ccm aufgefüllt, filtriert und polarisiert (I); ebensolche Proben wurden nach 14 Tagen (II), nach 24 Tagen (III) und nach 33 Tagen (IV) entnommen.

In Prozenten Traubenzucker wurden folgende Werte für die Polarisation abgelesen:

- I) 0,4 %.
- II) 0,25 %.
- III) 0,2 %.
- IV) 0,2 %.

Die Abnahme des Drehungsvermögens kann nicht etwa durch ein Ausfallen resp. Unlöslichwerden der Eiweißkörper hervorgerufen sein; denn letztere sind lävogy, die angewandten Zucker aber rechtsdrehend. Nur Zunahme, nicht Abnahme<sup>1)</sup> der Polarisationswerte könnte durch Globulinausfall bewirkt werden. Andererseits ging aber nicht mehr Globulin in Lösung, vielmehr nahm die Menge des Sedimentes im Laufe der Wochen zu. Es handelt sich dabei um die eiweißfällende Wirkung des

<sup>1)</sup> In dem Referat in den Ber. d. Patholog. Ges. steht versehentlich Zunahme statt Abnahme.

Antisepticums; nach ruhigem Stehen konnte man öfter die Abscheidung frischer weißer Flocken auf dem älteren mehr gelblichen und körnigen Globulinbodensatz beobachten.

Die Konstanz der Drehung nach etwa  $4\frac{1}{2}$  Woche deutete den Eintritt eines Gleichgewichtszustandes unter den Produkten des Gemisches an.

Die weitere Verarbeitung geschah folgendermaßen: Nach Verdünnung auf 100 ccm wurde die Flüssigkeit samt Niederschlag unter Zusatz weniger Tropfen verdünnter Essigsäure zum Sieden erhitzt und etwa 3 Minuten hierbei belassen. Dabei coagulierte das gelöste Eiweiß aus, das nach dem Erkalten abfiltriert und ausgewaschen wurde. Das gesamte Filtrat wurde auf 100 ccm eingeengt und im Becherglase sodann  $1\frac{3}{4}$  Stunden im siedenden Wasserbade mit einer Mischung von 12,0 g Phenylhydrazin + 12,0 ccm Essigsäure von 50% behandelt. Noch in der Wärme fielen reichliche Mengen Osazon aus, die bei Abkühlung auf 70° noch zunahmen. Dieselben wurden nunmehr abfiltriert und das Filtrat in den Eisschrank gestellt. Aus diesem schied sich innerhalb 24 Stunden ein nicht unerheblicher Niederschlag aus, der das Osazon eines event. gebildeten Disacharids enthalten mußte. Durch dreimalige Umkristallisation aus heißem Wasser, wobei jedesmal der schwerlösliche Anteil verworfen wurde, erhielten wir 0,27 g eines schön gelben Osazons vom Schmelzpunkt 192 bis 194°.

Die Analyse<sup>1)</sup> ergab einen Gehalt von

55,30% C; 6,38% H; 10,88% N;

entsprechend der Formel eines Disacharidosazons  $C_{24}H_{32}N_4O_9$ , die

55,15% C; 6,25% H und 10,70% N

verlangt, während Glukosazon oder Galaktosazon ( $C_{18}C_{22}N_4O_4$ ):

60,34% C; 6,15% H und 15,64% N

enthält.

Zur Bestimmung des Drehungsvermögens reichte die Quantität des Osazons nicht aus.

Dieser mit Antiemulsinserum gelungene Versuch ermutigte uns, weitere Antifermente auf eventuelle synthetisierende Fähigkeiten hin zu untersuchen. In erster Linie kamen Antisera gegen fettsplattende Fermente in Frage, da hier der Nachweis einer geschehenen Synthese verhältnismäßig einfach zu führen ist. Ein Antikörper gegen das wichtigste im tierischen

1) 0,1516 g Substanz ergaben: 0,3072 g  $CO_2$  und 0,0876 g  $H_2O$ ;

0,1042 g Substanz ergaben: 9,9 ccm N bei 18° und 757 mm.

Körper vorkommende lipolytische Ferment, das Steapsin, ist bisher erst einmal von A. Schütze<sup>1)</sup> hergestellt worden. Dieser Autor injizierte Kaninchen in Dosen von 5 ccm nach und nach 50 ccm und mehr der Grüblerschen „Steapsinsolution“ und erzielte so ein Antiserum, das in kleiner Menge eine Hemmung, in größerer (zehnfacher) eine völlige Aufhebung der Lipolyse durch das Grüblersche Steapsin bewirkte. Wir verfahren bei der Herstellung des Antisteapsins in gleicher Weise wie Schütze, indem wir die in Flaschen zu 50 ccm jedesmal frisch von Grübler bezogene Steapsinsolution Kaninchen in Dosen von 5 ccm subcutan einverleibten; jede neue Sendung der Steapsinlösung wurde selbstverständlich vor ihrer Verwendung auf ihre lipolytische Fähigkeit geprüft. Leider waren wir mit unseren Versuchstieren nicht so glücklich wie Schütze, der seinen Kaninchen das Steapsin in Abständen von 3 bis 4 Tagen injizieren konnte und angibt, daß die Tiere „abgesehen von teilweise auftretenden phlegmonösen Abscedierungen im Bereiche der Bauchhaut die Behandlung gut vertrugen“. Bei unseren Tieren erzeugte subcutane Injektion von 5 ccm Steapsinsolution allemal innerhalb zweimal 24 Stunden ein markstückgroßes Loch in der Haut, und wenn die Injektion am Rücken vorgenommen war, bezeichnete ein von der Injektionsstelle nach dem Bauche herabziehender ulcerierter Streifen den Weg, den das sich dieses Loch „fressende“ Steapsin genommen hatte. Wir gingen deshalb bis auf Dosen von 1 bis 2 ccm zurück und legten die einzelnen Injektionen 8 bis 12 Tage auseinander, konnten aber gleichwohl die Entstehung zahlreicher Abscesse und Phlegmonen nicht verhindern. Von 6 behandelten Kaninchen ging eines sehr bald spontan ein; 2 wurden binnen kurzer Frist so dekrepide und hatten so ausgedehnte Abscesse erhalten, daß sie nicht weiter verwendbar waren und getötet werden mußten. Von den 3 übrigen Kaninchen konnte nur eines (Kan. III) so weit gebracht werden, daß es im ganzen etwa 50 ccm Steapsinsolution einverleibt erhielt; es wurde 6 Tage nach der letzten Injektion entblutet. Die beiden anderen (Kan. I und V) machten schon nach Injektion von

<sup>1)</sup> A. Schütze, Deutsche med. Wochenschr. 1904.



20 ccm Steapsinlösung einen so wenig vertrauenerweckenden Eindruck, daß ihre Entblutung ratsam erschien, zumal ihr Serum bereits antilipolytische Fähigkeit zeigte.

Zur Prüfung der letzteren verfahren wir in folgender Weise: In ein flaches Erlenmeyerkölbchen wurden 10 ccm Rizinusöl gegeben; in einem zweiten wurden 10 ccm Rizinusöl mit 0,5 ccm der Steapsinlösung, in einem dritten außerdem noch mit 2 ccm des zu prüfenden Serums durch Schütteln innig vermengt. Sämtliche Kölbchen wurden vier Stunden lang unter häufigem Umschütteln bei 37° im Thermostaten gehalten. Bei der nun folgenden Titration der etwa gebildeten Fettsäuren war zu berücksichtigen, daß, abgesehen von dem Rizinusöl, auch die Steapsinlösung bereits sauer reagierte, das zugesetzte Serum hingegen alkalisch; es wurde daher unmittelbar vor der Titration dem ersten Kölbchen 0,5 ccm Steapsinlösung, ferner dem ersten und zweiten je 2 ccm des verwendeten Serums zugesetzt, so daß nunmehr alle Kölbchen dieselben Quanta der entsprechenden Substanzen enthielten. Zwecks besserer Vermischung der Titrierflüssigkeit mit dem öligen Inhalt der Kölbchen wurde dann in jedes derselben 20 ccm 93prozentiger Alkohol eingegossen, von dessen neutraler Reaktion wir uns überzeugten, und gehörig umgeschüttelt; es folgte Titration mit  $\frac{1}{5}$  Normalnatronlauge und Phenolphthalein als Indikator. Zur Vermeidung von zufälligen Irrtümern wurden in der Regel Doppelbestimmungen ausgeführt. Im folgenden seien einige Beispiele wiedergegeben:

#### Serum Kan. I.

	Verbrauch an $\frac{1}{5}$ n-NaOH
10 ccm Rizinusöl allein . . . . .	2,5 ccm
10 " " " . . . . .	2,5 "
10 " " + 0,5 ccm Steapsin . . . . .	5,1 "
10 " " + 0,5 " " . . . . .	5,3 "
10 " " + 0,5 " " + 2 ccm Serum . . . . .	3,4 "
10 " " + 0,5 " " + 2 " " . . . . .	3,3 "

#### Serum Kan. V.

	Verbrauch an $\frac{1}{5}$ n-NaOH
10 ccm Rizinusöl allein . . . . .	3,2 ccm
10 " " + 0,5 ccm Steapsin . . . . .	5,1 "
10 " " + 0,5 " " + 2 ccm Serum . . . . .	3,5 "

In diesen beiden Fällen zeigten die Sera somit deutliche antilipolytische Eigenschaften, da sie die fettspaltende Wirkung des Steapsins, wenn sie in viermal so großer Menge als dieses zugefügt werden, zum großen Teil aufzuheben vermochten. In Übereinstimmung mit Schütze konnten wir feststellen, daß einstündiges Erwärmen auf 56° dieser Fähigkeit keinen Eintrag tut.

Um zu beweisen, daß diese antipolytische Fähigkeit erst durch die Behandlung mit Steapsinsolution in die Erscheinung tritt, war es erforderlich, Kontrollversuche mit normalem Kaninchenserum auszuführen. Wir stellten dieselben sowohl mit frischem als auch mit eine Stunde lang auf  $56^{\circ}$  erwärmtem Serum an. Die Resultate sind folgende:

Frisches normales Kaninchenserum.

	Verbrauch an $\frac{1}{5}$ n-NaOH
10 ccm Rizinusöl allein . . . . .	0,7 ccm
10 " " " . . . . .	0,7 "
10 " " + 0,5 ccm Steapsin . . . . .	3,0 "
10 " " + 0,5 " " . . . . .	3,4 "
10 " " + 0,5 " " + 2 ccm Serum . . . . .	5,6 "
10 " " + 0,5 " " + 2 " " . . . . .	5,9 "

Erwärmtes normales Kaninchenserum.

10 ccm Rizinusöl allein . . . . .	3,2 ccm
10 " " + 0,5 ccm Steapsin . . . . .	5,1 "
10 " " + 0,5 " " + 2 ccm Serum . . . . .	9,0 "
10 " " + 0,5 " " + 2 " " . . . . .	8,1 "

Das normale Kaninchenserum zeigte also nicht nur keine antipolytischen Eigenschaften, sondern vermochte sogar die fettspaltende Wirkung des Steapsins wesentlich zu erhöhen, ein Umstand, der übrigens bisher in der Literatur nicht erwähnt ist; in Schützes Arbeit findet sich nur die Bemerkung, daß normales Kaninchenserum für sich allein nicht fettspaltend wirkt.

Ebenso wie Schütze mußten auch wir in einem Falle einen völligen Mißerfolg bezüglich der Antisteapsinproduktion verzeichnen, und zwar gerade bei Kaninchen III, das mehr als doppelt so viel Steapsin erhalten hatte, als die beiden anderen.

Serum Kan. III.

	Verbrauch an $\frac{1}{5}$ n-NaOH
10 ccm Rizinusöl allein . . . . .	2,9 ccm
10 " " + 0,5 ccm Steapsin . . . . .	6,5 "
10 " " + 0,5 " " + 2 ccm Serum . . . . .	7,5 "
10 " " + 0,5 " " + 2 " " . . . . .	8,1 "

Das Serum verhielt sich also ganz wie das eines unbehandelten Tieres, d. h. es hemmte nicht, sondern begünstigte

im Gegenteil die lipolytische Wirkung der Steapsinlösung. Derartige Mißerfolge, für die mangels anderer Gründe eine individuelle Disposition der Versuchstiere verantwortlich gemacht werden muß, sind jedem bekannt, der sich mit Immunisierungsversuchen beschäftigt.

Serum III schied also von vornherein aus. Von Serum I war leider durch ein Versehen der größte Teil verloren gegangen. Es standen somit nur etwa 28 ccm des Serums V für die beiden Hauptversuche zur Verfügung.

Da das Serum nach Abtrennung der Blutkörperchen nur sehr geringe Mengen Fett enthält, glaubten wir, dasselbe ohne weiteres zu der Prüfung auf synthetisierende Fähigkeiten benutzen zu können. Wir stellten einen Versuch in saurer Lösung (a) und einen in neutraler Lösung (b) an.

a) 12 ccm Antilipaseserum wurden mit 0,9 g Glycerin und 8,4 g freier Ölsäure (purissim. Kahlbaum) versetzt und in einem Erlenumeyerkölbchen im Brutschrank bei 38° aufbewahrt. Der Zusatz eines besonderen Antisepticums unterblieb angesichts der fäulnishemmenden Wirkung von Glycerin und freier Ölsäure. Nach 2½ Monat wurde die fast täglich mehrfach geschüttelt gewesene Mischung im Vakuum zum dicken Brei eingengt, mit Soda alkalisch gemacht und im Soxlethapparat 3 Stunden lang mit Äther extrahiert. Der Verdampfungsrückstand, den der Äther hinterließ, war nur minimal. Es ließ sich in ihm weder Ölsäure durch Osmium noch Glycerin durch Erhitzen mit Borsäure nachweisen.

b) 15 ccm Antilipaseserum wurden mit 0,46 g Glycerin und 4,60 g reinem oleinsaurem Natrium versetzt; als Antisepticum dienten 0,5 ccm Toluol. Die Mischung wurde zunächst 2 Monat bei 38°, dann etwa 2 Monat bei Zimmertemperatur belassen. Die weitere Verarbeitung geschah in der gleichen Weise wie bei Versuch a), mit demselben negativen Erfolg.

---

Die vorliegende Arbeit ist zum Teil mit Mitteln ausgeführt, die wir der Liberalität der Gräfin Bose-Stiftung verdanken.

---