

Beiträge zur Kenntnis der Autolyse des normalen Serums.

I. Mitteilung. Einige beschleunigende Substanzen für die Aktivatoren¹⁾ der Serumautolyse.

Von

Prof. Dr. S. Yamakawa und **Dr. K. Ōkubo.**

(山川 章太郎)

(大久保 九平)

(Aus der Med. Klinik von Prof. Dr. S. Yamakawa der
Kaiserl. Universität zu Sendai.)

In einer früheren Arbeit publizierte einer der Verfasser²⁾ die Ergebnisse seiner Untersuchungen über Selbstverdauung, die sich infolge der Einwirkung gewisser chemischer Substanzen wie Azetons, Chloroforms und einiger tieferer Alkohole im normalen Meerschweinchen Serum abspielen kann. In den genannten Untersuchungen wurde, wie das bei Fermentuntersuchungen im allgemeinen üblich ist, mit dem Toluol als Antiseptikum freiwillig gearbeitet. In der Tat hat Toluol wenn es allein mit dem zu untersuchenden Serum gemischt wird, niemals die Wirkung, das inaktive Serum in den aktiven Zustand überzuführen. So dachte der Verfasser damals nicht daran, ob Toluol dem Serum gegenüber auch dann noch ganz indifferent sei, wenn es mit anderen Reagenzien wie Azeton und Alkoholen zusammen auf das Serum wirkt. Jetzt sind wir in der Lage, diese Frage einigermaßen klarzustellen.

In den früheren Untersuchungen wurde das Serum ausschliess-

1) Das Wort „Aktivierung“ ist an dieser Stelle nicht in seinem eigentlichen Sinne gebraucht, das Vorferment in den aktiven Zustand überzuführen. Es bedeutet bloss die Wirkung einiger Substanzen, die das normale Serum derart umwandeln, dass die im Serum vorgefundene Protease durch Aufhebung der hemmenden Kraft des Serums, das eigne Serumeiweiss abzubauen, befähigt wird.

2) S. Yamakawa, Journal of Experimental Medicine, Vol. 27, pp. 589 und 711.

lich nach der Vordialyse gebraucht, und zwar weil sonst die im normalen Serum vorgefundenen Eiweissabbauprodukte zweifelsohne die Schätzung der stattgefundenen Selbstverdauung des Serums hätten erschweren können. Zu diesem Zweck wurde das frische Serum vorher unter Toluolzusatz gegen fließenden Strom steriler, physiologischer Kochsalzlösung gründlich dialysiert. Infolge dieser Vorbehandlung wird das Serum immer mit Toluol gewissermassen innig gemischt und emulgiert. Aber bei den Untersuchungen über die Wirkung des Toluols darf das Ausgangsmaterial vorher nie dieselbe Substanz enthalten. Andererseits kann man die Austreibung der vorgefundenen Eiweissabbauprodukte aus dem Serum durch Dialyse vorteilhafter nach erfolgter Aktivierung des Serums ausführen, wobei auch der Aktivator, dessen Gegenwart während der Bebrütung für die Protease eher schädlich wirkt, gleichzeitig aus dem Serum entfernt werden kann. Aus diesen Gründen wurde in den vorliegenden Untersuchungen hauptsächlich frisches Serum ohne Vordialyse als Ausgangsmaterial gebraucht.

Als Antiseptikum wurde das Ersatzmittel des Toluols überhaupt nicht gebraucht. Denn wirken Chloroform, worauf schon in der früheren Arbeit hingewiesen wurde, und Phenole, von denen demnächst in einer zweiten Mitteilung dieser Arbeit die Rede sein soll, auf das Serum energisch aktivierend. Von anderen antiseptischen Mitteln ist noch nicht bekannt, ob sie dem Serumferment gegenüber sicher indifferent sind. Somit würden in den vorliegenden Untersuchungen die Manipulationen nicht antiseptisch, sondern bloss aseptisch ausgeführt und die zu verdauenden Flüssigkeiten am Ende der Proben jedesmal auf ihre Sterilität geprüft.

In den Untersuchungen wurde frisches Serum manchmal vorher mit physiologischer Kochsalzlösung ums doppelte verdünnt. Diese Verdünnung des Ausgangsmaterials ist aber wirklich entbehrlich, da eine Untersuchung erwies, dass das unverdünnte Serum ebenfalls in Selbstverdauung gebracht werden kann. Der Grund zur Verdünnung liegt darin, dass wir die Bedingungen der zu aktivierenden Flüssigkeiten möglichst denen des vordialysierten Serums gleichstellen wollten, mit welchem die früheren Untersuchungen über Serumautolyse von einem der Verfasser ausgeführt wurden. Bezüglich der Nachweismethode der stattgefundenen Selbstverdauung des Serums und die quantitative Schätzung der gelieferten Abbauprodukte verweisen wir auf die genannte frühere Mitteilung.

A. EINFLUSS DES TOLUOLS AUF DIE AKTIVIERUNG DER SERUMAUTOLYSE DURCH AZETON.

Wie eingangs erörtert, hatten wir in den Untersuchungen über die Autolyse des Serums Toluol als Antiseptikum freiwillig benutzt, das im allgemeinen als gleichgültig gegen Fermente betrachtet wird. Wir bemerkten später, dass Toluol nicht nur beim Serumferment unschädlich ist, sondern auch bei der Aktivierung der Serumautolyse durch Azeton eine unverkennbare Rolle spielt. Nämlich Azeton für sich allein vermag erst bei länger dauernder Einwirkung die Aktivierung der Serumautolyse vollkommen hervorzubringen, dagegen kann der Aktivator, wenn er nur kurze Zeit auf das Serum wirkt, ohne Zusammenwirken mit Toluol seine Funktion nicht regelrecht ausführen. Diese befördernde Beschaffenheit des Toluols wird in den folgenden Untersuchungen von allen Seiten her demonstriert werden.

Versuch I. Beziehung der Temperatur auf die Aktivierung der Serumautolyse durch Azeton.

In der wärmeren Jahreszeit geht die Aktivierung des toluolhaltigen Serums durch Azeton im Zimmertemperatur immer innerhalb von 30 Minuten glatt vor sich. In den Wintermonaten dagegen, wenn die Heizung des Laboratoriums mangelhaft ist und die Zimmertemperatur unter 20°C sinkt, ist der Aktivierungsprozess innerhalb dieses Zeitraums nicht so regelmässig eingetreten. Durch die folgende Untersuchung wurde versucht, die Breite der optimalen Temperatur für die Aktivierung der Serumautolyse durch Azeton zu finden.

Je 1,0 ccm frischen Meerschweinchenserums wurde in 12 Reagenzgläsern mit physiologischer Kochsalzlösung ums doppelte verdünnt und mit 0,7 ccm Azeton beschickt. Einer Hälfte dieser Reagenzgläsern wurden noch 2 Tropfen Toluol hinzugesetzt und sie gründlich geschüttelt. Die andere Hälfte bekam dagegen keinen Toluolzusatz. Alle Gläsern wurden zuerst im Eiswasser abgekühlt. Je ein Gläsern aus diesen zwei Reihen wurde dann im Wasserbad bei verschiedenen, unten tabellarisch dargestellten Temperaturen 30 Minuten lang belassen. Sofort nach Ablauf der Frist wurden die Gläsern herausgenommen und wieder im Eiswasser abgekühlt. Der Inhalt der Gläsern wurde dann auf Zelloidinmembranen übertragen und 3 Stunden gegen fließende, eiskalte, physiologische Kochsalzlösung dialysiert, um den Aktivator und die im Serum vorgefundenen Eiweissabbauprodukte aus dem Serum zu entfernen. Die Dialysaten wurden dann in Papierhüllen getan und 16 Stunden im Brutschrank digeriert. Das Ergebnis der stattgefundenen Selbstverdauung des Serums war das folgende.

Tabelle I.

Aktivierung des Serums durch Azeton bei verschiedenen Temperaturen mit konstanter Zeitdauer.

Gläschen No.	Serum-Azetonmischung ohne Toluol erwärmt 30 Minuten bei:	Autolyse	Gläschen No.	Serum-Azetonmischung mit Toluol erwärmt 30 Minuten bei:	Autolyse
1)	10° C	—	7)	10° C	—
2)	15° C	±	8)	15° C	+
3)	20° C	±	9)	20° C	+++
4)	25° C	+++	10)	25° C	+++
5)	30° C	++	11)	30° C	—
6)	35° C	—	12)	35° C	—

Die Temperatur übt, wie man aus der Tabelle ersieht, einen grossen Einfluss auf die Serumaktivierung aus. Die optimale Temperatur für die Serumaktivierung ist in den beiden Versuchsreihen verschieden und verschiebt sich in der Weise, dass sie beim Zusammenwirken von Toluol mit Azeton viel tiefer liegt, als im Falle ohne Toluol. Dieses Ergebnis kann man dahin deuten, dass die Serumaktivierung durch Azeton in Gegenwart von Toluol schon in tieferen Temperaturen eintritt und wieder vergeht. Das Fehlen der Serumaktivierung bei höheren Temperaturen beruht wahrscheinlich darauf, dass das Serumferment durch übermässig starke Einwirkung des Aktivators vernichtet wurde. Ein ähnliches Resultat war auch schon bei dem Verdauungsversuche des Serums in Gegenwart von Aktivatoren beobachtet worden, wo keine Autolyse des Serums stattfindet¹⁾.

Versuch II. Beschleunigende Wirkung des Toluols auf die Aktivierung des Serums durch Azeton.

Dass Toluol auf die Aktivierung des Serums durch Azeton beschleunigend wirkt, kann man schon aus der vorangegangenen Untersuchung ersehen, wo das Serum in den Proben mit einer kleinen Menge Toluol bei viel tieferen Temperaturen ausreichend aktiviert wurde als in denen ohne Toluolzusatz. Um dieses Verhältnis noch ausführlich auseinanderzusetzen, wurde im folgenden die

1) S. Yamakawa, Journ. Exper. Med., Vol. 27, No. 6, p. 699.

Geschwindigkeit der Serumaktivierung bei konstanten Temperaturen systematisch vergleichend untersucht.

Die Versuchsmaterialien wurden in gleicher Weise wie bei dem vorangegangenen Versuche in zwei Reihen von je 6 Reagenzgläschen geteilt. Alle Gläschen wurden zuerst in Eiswasser eingetaucht und dann in ein Wasserbad mit bestimmter Temperatur gestellt. Nach Ablauf von 7,5, 15, 30 Minuten, 1, 2 und 4 Stunden wurde jedesmal aus beiden Reihen der toluolhaltigen und nicht-toluolhaltigen Proben je ein Gläschen aus dem Wasserbad herausgenommen und wieder im Eiswasser abgekühlt. Der Inhalt der Gläschen wurde nun eiskalter physiologischer Kochsalzlösung zur Dialyse unterworfen. Die Dialysaten wurden, wie üblich, weiter bebrütet. Der Versuch wurde dreifach bei 25° C, 22½° C und 20° C angestellt. Das Resultat der Selbstverdauung war das folgende.

Tabelle II.

Geschwindigkeit der Wirkung des Aktivators
bei konstanter Temperatur.

Wirkungsdauer d. Aktivators	Bei 25° C		Bei 22½° C		Bei 20° C	
	Mit Toluol	Ohne Toluol	Mit Toluol	Ohne Toluol	Mit Toluol	Ohne Toluol
7,5'	±	—	±	—	—	—
15'	+++	+	+++	—	—	—
30'	+++	+++	+++	—	+++	—
1°	++	+++	++	++	+++	—
2°	±	+++	+	+++	±	±
4°	±	+	±	+	±	++

Aus den Ergebnissen der Untersuchungen erhalten wir die Befunde, dass bei konstanter Temperatur der Aktivator zur Durchführung seiner Funktion einer gewisser optimalen Zeitdauer bedarf, die bei höheren Temperaturen viel kürzer sein kann als bei tieferen, und dass die Temperatur unter 20°C für die Serumaktivierung durchaus ungeeignet ist. Schliesslich stellen die Ergebnisse den Unterschied zwischen toluolhaltigen und nicht-toluolhaltigen Seren ausgezeichnet dar, dass im Falle der ersteren die Serumaktivierung viel schneller vor sich geht als im Falle der letzteren. Da dieses letztere Verhältnis unter allen diejenigen Proben am schönsten demonstrieren, die bei 22½° C vorgenommen worden waren, so wird diese Temperatur in den folgenden Untersuchungen für die Prüfung derartiger Beschleunigung vielfach verwendet.

B. SUBSTANZEN IM ALLGEMEINEN, DIE AUF DIE SERUM-
AKTIVIERUNG DURCH AZETON BESCHLEUNIGEND WIRKEN.

Einige Substanzen aus den Benzolhomologen, den aromatischen Alkoholen und Ketonen und der aliphatischen Reihe wurden auf ihre Fähigkeit geprüft, die Aktivierung des Serums zu beschleunigen. Die zur Untersuchung gekommenen Substanzen sind fast ausnahmslos bei gewöhnlicher Temperatur flüssig (Benzophenon ausgenommen) und gegen Lackmus neutral. Diejenigen Ketone und Alkohole der aliphatischen Reihe und auch die Phenole, die sich schon als Aktivatoren der Serumautolyse erwiesen hatten, wurden hier nicht untersucht.

Versuch III. Untersuchungen mit Benzolhomologen.

Unter den Benzolhomologen wurden hier Benzol, Toluol, o- und p-Xylol, Mesitylen, Cumol und Cymol zur Untersuchung herangezogen. Über Toluol wurden die Untersuchungen schon oben ausführlich angegeben, er diente uns hier zur Kontrolle als sicheres Beschleunigungsmittel der Serumaktivierung. Mit verschiedenen Mengen dieser Substanzen wurde unter derselben Versuchsanordnung wie beim vorigen Versuche zunächst ihre beschleunigende Wirkung auf die Serumaktivierung durch Azeton geprüft.

43 Reagenzgläschen erhielten gleichmässig 1,0 ccm Meerschweinchenserum, 1,0 ccm physiologische Kochsalzlösung und 0,7 ccm Azeton. Ein Gläschen bekam keinen weiteren Zusatz, es blieb zur Kontrolle stehen. Die übrigen 42 Gläschen wurden mit verschiedenen Mengen der oben erwähnten Substanzen beschickt und gründlich geschüttelt. Alle Gläschen wurden zuerst im Eiswasser abgekühlt und dann im Wasserbad bei $22\frac{1}{2}^{\circ}\text{C}$ 30 Minuten lang aufbewahrt. Nach Ablauf der Frist wurden sie wieder in Eiswasser eingetaucht. Weitere Behandlung erfolgte wie üblich.

Tabelle III.

Beschleunigende Wirkung der Substanzen des Benzol-
homologes auf Serumaktivierung durch Azeton.

Menge der zu untersuchenden Substanzen	Benzol	Toluol	o-Xylol	p-Xylol	Mesitylen	Cumol	Cymol
0,5 ccm	++	++	±	±	±	-	-
0,1 „	+++	+++	++	±	+	+	+
3 Tropfen	+++	+++	++	+	+	+	+
1 „	+++	+++	++	+	+	+	±
$\frac{1}{2}$ „	+++	++	+	++	±	±	-
$\frac{1}{4}$ „	+	+	±	+	-	-	-

Das Volum der Tropfen der Substanzen muss wegen ihrer verschiedenen Oberflächenspannung natürlich verschieden sein. In diesem Falle lieferten aber die Substanzen beinahe gleiche Werte, und ein Tropfen betrug etwa ein Fünfzigstel bis Sechzigstel ccm. Aus der Untersuchung resultiert, dass die untersuchten Substanzen des Benzolhomologs alle in geeigneten Mengenverhältnissen die Serumaktivierung durch Azeton mehr oder minder stark beschleunigen können und zwar sind hierin die tieferen Exemplaren der Reihe viel stärker als die höheren.

Dann wurde unter derselben Versuchsanordnung, wie im Versuch II angegeben, die beschleunigende Wirkung der Substanzen des Benzolhomologs vom Gesichtspunkt der Zeit aus geprüft. Das Ergebnis deckte sich vollkommen mit dem des letzten Versuches, wie aus folgender Tabelle ersichtlich ist.

Tabelle IV.

Geschwindigkeit der Serumaktivierung durch Azeton
beim Zusammenwirken mit den beschleunigenden
Substanzen des Benzolhomologs.

Meerschweinchenserum 1,0 ccm + Physiologische Kochsalzlösung 1,0 ccm + Azeton 0,7 ccm, erwärmt bei 22½° C								
Zeitdauer der Erwärmung	Ohne Be- schleunigungs- mittel	Mit 3 Tropfen						
		Benzol	Toluol	o- Xylol	p- Xylol	Mesity- len	Cumol	Cymol
7,5'	—	++	±	—	—	—	—	—
15'	—	+++	+++	±	±	—	±	±
30'	—	+++	+++	++	+	+	+	+
1°	++	+++	+++	+++	++	±	+	—

Um vom Beschleunigungsmittel der Aktivatoren der Serumauto-lyse sprechen zu können, dürfen natürlich die Substanzen selbst keine aktivierende Einwirkung auf das Serum besitzen. Durch die folgende Untersuchung wurde die Wirkung der Substanzen des Benzolhomologs allein auf das Serum geprüft.

Von dem mit physiologischer Kochsalzlösung ums zweifache verdünnten Meer-schweinchenserum wurden je 2,0 ccm in Reagenzgläschen mit absteigenden Mengen der zu untersuchenden Substanzen beschickt und gründlich geschüttelt. Zur Kontrolle der erfolgreichen Aktivierung blieb eine Probe mit Serum-Azetonmischung unter Zusatz

von 3 Tropfen Benzol stehen. Die Gläschen wurden 30 Minuten im Wasserbad bei $22\frac{1}{2}^{\circ}\text{C}$ erwärmt und darauf dialysiert. Weitere Behandlung wurde wie üblich vorgenommen.

Tabelle V.

Wirkung der Substanzen des Benzolhomologs allein
auf die Selbstverdauung des Serums.

Menge der zu untersuchenden Substanzen	Benzol	Toloul	o-Xylol	p-Xylol	Mesitylen	Cumol	Cymol
1,0 ccm	—	—	—	—	—	—	—
0,5 „	—	—	—	—	—	—	—
0,1 „	—	—	—	—	—	—	—
3 Tropfen	—	—	/	/	/	/	/
1 „	—	—	/	/	/	/	/

Aus der Untersuchung ergab sich keine Aktivierung des Serums durch alleinige Einwirkung der Substanzen des Benzolhomologs.

Versuch IV.

Untersuchungen mit aromatischen Ketonen
und Alkoholen.

Benzylalkohol, Phenyläthylkarbinol, Azetophenon, Propylphenon und Benzophenon standen uns hier bei der Untersuchung zur Verfügung. Benzophenon, das bei Zimmertemperatur fest ist, wurde bei 50°C geschmolzen, volumimetric gemessen und in Azeton gelöst und bei der Untersuchung entsprechend verteilt. Die übrigen Versuchsanordnungen waren ganz gleich wie bei den früheren Untersuchungen. Die Zelloidinröhren, die zur Dialyse verwendet wurden, konnten eine zu grosse Menge von aromatischen Alkoholen und Ketonen nicht vertragen, besonders wenn Azeton zusammen dabei vorhanden war. Deshalb waren wir gezwungen, den Zusatz der zu untersuchenden Substanzen auf eine verhältnismässig geringe Menge zu beschränken. Unten werden die Ergebnisse der Untersuchung kurz tabellarisch dargestellt.

Tabelle VI.

Beschleunigende Wirkung der aromatischen Ketone
und Alkohole auf die Aktivierung des Serums
durch Azeton.

Meerschweinchenserum 1,0 ccm + Physiologische Kochsalzlösung 1,0 ccm + Azeton 0,7 ccm, erwärmt 30 Minuten bei 22½° C mit:						
Menge der zu untersuchenden Substanzen	Benzyl- alkohol	Phenyl- äthylkar- binol	Azeto- phenon	Propyl- phenon	Benzo- phenon	Ohne Beschleuni- gungsmittel
0,1 ccm	+	+++	++	++	++	—
3 Tropfen	++	++	+++	+++	+++	
1 „	++	++	++	++	++	
½ „	±	—	±	±	++	
¼ „	—	—	±	—	+	

Tabelle VII.

Wirkung der aromatischen Alkohole und Ketone
allein auf die Selbstverdauung des Serums.

Meerschweinchenserum 1,0 ccm + Physiologische Kochsalzlösung 1,0 ccm, erwärmt 30 Minuten bei 22½° C mit:				
Menge der zu untersuchenden Substanzen	Benzyl- alkohol	Phenyläthyl- karbinol	Azetophenon	Propylphenon
0,5 ccm	—	—	—	—
0,1 „	+	—	—	—
3 Tropfen	+++	—	—	—
1 „	—	—	—	—

Wie wir aus den Tabellen ersehen, haben auch aromatische Alkohole und Ketone eine stark beschleunigende Wirkung auf die Serumaktivierung durch Azeton. Dagegen können sie durch alleinige Wirkung die Selbstverdauung des Serums meistens nicht auslösen. Nur beim Benzylalkohol ist diese letztere Fähigkeit mit Gewissheit nachgewiesen. Denn dasselbe Resultat hat sich bei wiederholten Untersuchungen jedesmal ergeben und kann deshalb nicht auf einem technischen Fehler beruhen.

Versuch V. Untersuchungen mit einigen Substanzen
der aliphatischen Reihe.

Schliesslich wurden einige Substanzen der aliphatischen Reihe wie Paraffine, mehrwertige Alkohole und dergleichen zur Untersuchung herangezogen. Dieselben Substanzen der Reihe, die schon als Aktivatoren der Serumautolyse bekannt sind, wurden nicht untersucht. Die Ergebnisse werden in den folgenden Tabellen übersichtlich angegeben.

Tabelle VIII.

Wirkung einiger Substanzen der aliphatischen Reihe
auf die Aktivierung des Serums durch Azeton.

Meerschweinchenserum 1,0 ccm + Physiologische Kochsalzlösung 1,0 ccm + Azeton 0,7 ccm, erwärmt 30 Minuten bei 22½° C mit:							
Menge der zu untersuchenden Substanzen	Petro- leumäther	Paraf- finum fluidum	Äthyl- äther	Äthylen- glykol	Gly- zerin	Oktyl- alkohol II	Toluol
0,5 ccm	+++	—	—	—	—		/
0,1 „	+	—	+++	—	—	+++	/
3 Tropfen	—	—	—	—	—	+++	+++
1 „	—	—	—	—	—	+++	/

Tabelle IX.

Wirkung einiger Substanzen der aliphatischen Reihe
allein auf die Selbstverdauung des Serums.

Meerschweinchenserum 1,0 ccm + Physiologische Kochsalzlösung 1,0 ccm, erwärmt 30 Minuten bei 22½° C mit:						
Menge der zu untersuchenden Substanzen	Petroleum- äther	Paraffinum fluidum	Äthyl- äther	Äthylen- glykol	Glyzerin	Oktyl- alkohol II
1,0 ccm	—	—	—	—	—	—
0,5 „	—	—	—	—	—	—
0,1 „	—	—	—	—	—	—
3 Tropfen	—	—	—	—	—	—
1 „	—	—	—	—	—	—

Aus den Tabellen ist ersichtlich, dass die zur Untersuchung gekommenen Substanzen selbst keine aktivierende Wirkung auf das

Serum haben. Aber wenn sie mit dem Aktivator auf das Serum zusammenwirken, sind einige von ihnen nicht ganz gleichgültig. Die beiden flüssigen, mehrwertigen Alkohole, Äthylenglykol und Glycerin, erweisen sich dabei durchaus indifferent. Petroleumäther und Äthyläther können nur in einem gewissen Mengenverhältnis die Wirkung des Azetons beschleunigen. Besonders hervorzuheben ist, dass der Oktylalkohol, der im Gegensatz zu tieferen Gliedern derselben Kategorie, wie Amyl-, Butyl-, Propylalkohol und dergleichen, für sich allein keine aktivierende Wirkung auf das Serum besitzt, die Aktivierung des Serums durch Azeton stark beschleunigen kann.

C. WESEN DER DIE AKTIVIERUNG DES SERUMS BESCHLEUNIGENDEN WIRKUNG.

Aus den angeführten Untersuchungen kommt man zu dem Schluss, dass die Benzolhomologe, aromatischen Alkohole und Ketone, die zur Untersuchung herangezogen wurden, alle auf die Aktivierung des Serums durch Azeton in auffallender Weise beschleunigend wirken. Unter den untersuchten Substanzen der aliphatischen Reihe konnte man nur beim Oktylalkohol und gewissermassen auch beim Äthyläther und Petroleumäther diese Fähigkeit nachweisen, während flüssiges Paraffin, Glycerin und Äthylenglykol durchaus versagten. Diese Substanzen, die auf die Serumaktivierung beschleunigend wirken, stimmen fast alle darin überein, dass sie allein die Aktivierung der Serumautolyse nicht auslösen, mit Ausnahme vom Benzylalkohol, bei welchem die letztere Wirkung auch mit Gewissheit beobachtet wurde. Darüber, wie die Substanzen überhaupt die Serumaktivierung beschleunigen können, kann man an der Hand unsrer Untersuchungen nichts mit Bestimmtheit sagen. Die Substanzen haben den gemeinsamen Charakter, sich in Wasser schwer zu lösen. Daraus könnte man die Frage vielleicht in der Weise erklären, dass ein kleiner Teil des Azetons durch diese Substanzen während der Dialyse zurückgehalten wird und bei der Bebrütung seine aktivierende Wirkung weiter fortsetzen kann. Diese Annahme ist allerdings kaum haltbar, wenn man sich daran erinnert, dass eine zu kleine Menge Azeton nicht imstande ist, das Serum zu aktivieren. Auch konnten wir durch Nitroprussidreaktion eine Spur des Azetons weder im Inhalt der Dialysierhülse noch in ihrer Aussenflüssigkeit nach der Bebrütung nachweisen. Verständlicher ist die Vermutung, dass die genannten Substanzen wirklich die Beschaffenheit haben, das

Serum energisch zu aktivieren, aber beim blossen Zusammentreffen mit dem Serum durch ihre Schwerlöslichkeit nicht in innige Berührung mit dem letzteren kommen können und erst durch Vermittelung eines Lösungsmittels wie Azeton oder dergleichen die Möglichkeit gegeben wird, ihre Wirksamkeit voll zu entfalten. Es ist aber schwierig, die Berechtigung dieser Vermutung experimentell festzustellen.

Um die Bedeutung der genannten beschleunigenden Substanzen bei der Aktivierung des Serums zu bestimmen, möchten wir dieselben möglichst reichlich in Serum auflösen, und zwar mit Hilfe irgendeiner indifferenten Substanz, die selbst nicht das Serum aktivieren kann. Da wir aber vor der Hand keine solche Substanz finden konnten, so kam statt ihrer nur die mechanische Durchmischung vermittelt Schütteln in Betracht. Das hierzu vorgenommene Experiment war folgendes.

1,0 ccm Meerschweinchenserum wurde mit 0,1 ccm von Toluol resp. Oktylalkohol beschickt. In den Kontrollproben wurde noch 0,7 ccm Azeton hinzugefügt, um das Zustandekommen der Schüttelinaktivierung des Fermentes zu kontrollieren. Diese Mischungen wurden in geschmolzenen Glasröhrchen abgeschlossen und 30 Minuten lang mit dem Schüttelapparat bei $22\frac{1}{2}^{\circ}\text{C}$ energisch geschüttelt.

Das Resultat der Untersuchung zeigte, dass die physikalische Durchmischung des Serums mit Toluol oder Oktylalkohol durch Schütteln keine Aktivierung des Serums hervorrufen kann, während bei Proben mit Azetonzusatz das Serum selbst trotz des Schüttelns regelrecht aktiviert wurde. Dieses Experiment ist aber niemals beweiskräftig, um daraufhin die Bedeutung der genannten beschleunigenden Substanzen gegenüber der Serumautolyse zu beurteilen. Denn das Verhältnis muss beim Zusammenwirken mit einem Lösungsmittel ganz anders sein als im Falle blosser physikalischer Durchmischung schwerlöslicher Substanzen mit dem Serum.

Dass die Wirkung der beschleunigenden Substanzen, wie die der Aktivatoren, an das Serum als Substrat und nicht an die Serumprotease gebunden ist, soll in einer späteren Mitteilung über die Versuche mit Pancreatin ausführlich erörtert werden.

Zusammenfassung.

1. Die Aktivierung des Serums zu Autolyse durch Azeton ist in hohem Grade von der Aussentemperatur und der Wirkungsdauer

des Aktivators abhängig. Die Temperatur über 30°C und unter 20°C sind dafür nicht geeignet, und das Temperaturoptimum schwankt zwischen den schmalen Zonen um 25°C herum.

2. Die Wirkung des Azetons auf die Serumaktivierung wird ganz beträchtlich beschleunigt durch Zusatz von einer kleinen Menge einiger organischen Substanzen. Als solche sind erwiesen: Benzolhomologe, aromatische Alkohole und Ketone und in einem gewissen Grade auch einige aliphatische Substanzen. Fast alle diese Substanzen sind nicht imstande, für sich allein die Serumaktivierung auszulösen.
