

# Über Kohlehydratverbrennung.

## II. Mitteilung.

### Die aktivierende Substanz des Pankreas.

Von

**Otto Cohnheim.**

Mit zwei Abbildungen.

(Aus dem physiologischen Institut Heidelberg.)  
(Der Redaktion zugegangen am 10. Juli 1904.)

Im Sommer 1903 habe ich Versuche mitgeteilt,<sup>1)</sup> nach denen die Muskeln von Hunden und Katzen ein glykolytisches Ferment enthalten, das aber an sich unwirksam ist und der Aktivierung durch Pankreas bedarf.

Es kam nun zunächst darauf an, diese Fermente zu isolieren, da nur dann eine weitere Untersuchung Erfolg versprach. Für den wirksamen Bestandteil des Pankreas ist mir das einigermaßen gelungen. Er ist kochbeständig, löst sich in Wasser, in 96%igem Äthylalkohol, dagegen nicht in Äther, und läßt sich auf Grund dieser Eigenschaften leicht von den Eiweißkörpern, Fermenten und überhaupt den meisten Bestandteilen des Pankreas trennen.

Der Muskelsaft wurde wie früher gewonnen, indem die Muskeln von entbluteten Katzen gefroren, mit der Kosselschen Schneidemaschine zerkleinert und nach Zusatz von Kieselguhr mit der Buchnerpresse ausgepreßt wurden. Zu den Versuchen dienten stets je 40 ccm des mit Traubenzucker versetzten Muskelsaftes (entsprechend etwa 75 g Muskeln). Dazu kamen

<sup>1)</sup> O. Cohnheim, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIX, S. 336 (1903). — Zuerst vorgetragen im Heidelberger Medizinischen Verein am 28. Juli 1903 (Referat Münchener Medizinische Wochenschrift, 1903, S. 2029). Ich gebe das Datum ausdrücklich, da im Zentralblatt für Physiologie die Priorität für die im August 1903 erschienene Dissertation von Fräulein R. Hirsch reklamiert wird.

5 ccm einer gesättigten Lösung von Natriumbikarbonat, reichlich Toluol und wechselnde Mengen der Pankreasextrakte. Dann wurden die Flaschen 16—20 Stunden in den Brutschrank gestellt. Die Zuckerbestimmung erfolgte nach Pavy, nachdem das Eiweiß durch Kochen mit Kochsalz und Essigsäure entfernt war.

### Versuch 1.

Ein Katzenpankreas von 8 g wird mit Sand zerrieben und wiederholt mit Alkohol von 96% extrahiert, die alkoholische Lösung bei 40° verdampft, der Rückstand mit 80 ccm Wasser aufgenommen.

Kein Zusatz:	26 mg Dextrose verschwunden
10 ccm Pankreasextrakt:	62 » » »

### Versuch 2.

Geradeso. Katzen- und Rindspankreas.

Kein Zusatz:	Kein Zucker verbrannt
4 ccm Katzenpankreas:	50 mg » »
8 » Rindspankreas:	65 » » »

### Versuch 3.

30 g Rindspankreas werden mit Alkohol extrahiert, die alkoholische Lösung bei 40° zur Trockene eingedampft und der Rückstand erst mit Äther, dann mit Alkohol, dann mit Wasser extrahiert. Die 3 Extrakte werden wieder eingetrocknet und in je 300 ccm Wasser gelöst. Zum Versuch dienen je 8 ccm der wässrigen Lösungen.

Ätherlöslich:	4 mg Dextrose verschwunden
In Äther unlöslich, in Alkohol löslich:	77 » » »
Rückstand von der Alkoholextraktion:	10 » » »

### Versuch 4.

Wie im vorigen Versuch, nur werden die Lösungen zum Teil gekocht.

Kein Zusatz:	47 mg Dextrose verschwunden
In Äther unlöslich, in Alkohol löslich,	
ungekocht; 8 ccm:	83 » » »
Die fertige Lösung aufgeköcht; 8 ccm:	85 » » »
Pankreas kochend extrahiert, dann ge-	
radeso behandelt; 8 ccm:	80 » » »
Ebenso behandelt; 6 ccm:	92 » » »

## Versuch 5.

Kein Zusatz: 34 mg Dextrose verschwunden  
 Katzenpankreas, Alkoholextrakt: 100 » » »

Doch bleibt bei der Extraktion des frischen, ungekochten Pankreas mit Alkohol ein gewisser Anteil der wirksamen Substanz an den Eiweißkörpern haften.

## Versuch 6.

1 Katzenpankreas wird 3mal mit Alkohol, dann mit Äther extrahiert, der Rückstand in Wasser aufgeschwemmt, sodaß 10 ccm auf 1 g Pankreas kommen.

Kein Zusatz: 34 mg Dextrose verschwunden  
 20 ccm Pankreas: 174 » » »

## Versuch 7.

Genau so.

Kein Zusatz: 35 mg Dextrose verschwunden  
 10 ccm Extrakt: 91 » » »

Es erwies sich daher als zweckmäßiger, das Pankreas erst mit siedendem Wasser auszukochen und erst den Rückstand des weggedampften Wassers mit Alkohol zu extrahieren. Ich habe schließlich folgende Methode angewendet: Rindspankreas wird zerhackt, in siedendes Wasser geworfen und zur Trockene eingengt. Der Rückstand wird mit mehreren Portionen Alkohol extrahiert, die alkoholische Lösung eingedampft und der Rückstand mit Äther ausgekocht. Der in Äther unlösliche Rückstand wird entweder direkt in Alkohol gelöst oder nochmals in Wasser gelöst, filtriert, eingedampft und nun erst mit Alkohol aufgenommen. Man bekommt so eine gelblich gefärbte, alkoholische Lösung, die den wirksamen Bestandteil des Pankreas enthält. Zu den Versuchen habe ich eine bestimmte Menge dieser Lösung genommen, den Alkohol weggedampft und den Rückstand in soviel Wasser gelöst, daß 10 ccm auf 1 g Pankreas kamen.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Mit Rücksicht auf die zu erwartende therapeutische Verwendung haben auf meine Veranlassung die Vereinigten Chemischen Werke Charlottenburg die Darstellung eines kochbeständigen, alkohollöslichen Aktivators aus dem Pankreas zum Patent angemeldet.

Ich führe einige Versuche mit einer solchen Lösung an:

8. 40 cem Muskelsaft + 8 cem Extrakt:	107 mg Dextrose verbrannt		
9. Kein Zusatz:	27	»	»
8 cem Extrakt:	56	»	»
10. Rindfleisch. Kein Zusatz:	44	»	»
6 cem Extrakt:	76	»	»
11. Katzenfleisch. Kein Zusatz:	128	»	»
5 cem Extrakt:	187	»	»

Der Grund für die großen quantitativen Unterschiede wird weiter unten auseinandergesetzt werden.

Die Löslichkeitsverhältnisse des Pankreasaktivators, seine Kochbeständigkeit und seine Alkohollöslichkeit zeigen, daß er kein Ferment ist, sie stellen ihn vielmehr auf eine Stufe mit den andern länger bekannten Produkten der inneren Sekretion, dem Adrenalin, dem Jodothyrim und dem Sekretin. Vor allem aber besteht eine vollkommene Übereinstimmung mit dem Körper, den Magnus<sup>1)</sup> in der Leber entdeckt hat: Magnus fand, daß sich das esterspaltende Ferment der Leber in 2 Bestandteile zerlegen läßt, deren einer kochbeständig, in Wasser und Alkohol löslich, in Äther unlöslich ist. Auch daran ist zu erinnern, daß Ehrlichs Amboceptoren zwar nicht kochbeständig sind, aber doch weit höhere Wärmegrade vertragen, als die empfindlicheren Komplemente und die meisten Fermente.

Was nun die Wirkungsart dieses Körpers anlangt, so ergab sich ein überraschender Befund:

Setzt man nämlich zu einer gleichbleibenden Menge von Muskelsaft und von Zucker steigende Mengen Pankreas hinzu, so nimmt die Wirkung erst zu und dann wieder ab. Es gilt das sowohl, wenn man das ganze Pankreas verwendet, als auch für das alkoholische Extrakt des gekochten und des ungekochten Pankreas, als auch für den bei der Alkoholextraktion an den Eiweißkörpern haftenden Aktivator. Ich gebe einige Beispiele:

<sup>1)</sup> R. Magnus, Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 149, 1904.

## Versuch 12.

Pankreas mit Quarz zerrieben und mit 10facher Menge Wasser extrahiert:

Kein Zusatz:	50 mg Dextrose verbrannt
10 ccm Pankreas:	100 » » »
20 » »	127 » » »
50 » »	77 » » »

## Versuch 13.

Pankreas mit Alkohol und Äther extrahiert. Rückstand in der 10fachen Menge Wasser aufgeschwemmt.

Kein Zusatz	35 mg Dextrose verschwunden
5 ccm Pankreas	76 » » »
10 » »	91 » » »
20 » »	25 » » »

## Versuch 14.

Geradeso.

Kein Zusatz	34 mg Dextrose verschwunden
10 ccm Pankreas	115 » » »
15 » »	150 » » »
20 » »	174 » » »
28 » »	93 » » »
50 » »	0 » » »

## Versuch 15.

Pankreas mit Alkohol extrahiert, Alkohol bei 40° abgedampft und der Rückstand in 10 ccm Wasser pro 1 g Pankreas aufgenommen.

Kein Zusatz	26 mg Dextrose verschwunden.
10 ccm Pankreas	62 » » »
20 » »	0 » » »
30 » »	0 » » »
50 » »	0 » » »

## Versuch 16.

Pankreas kochend extrahiert. Alkoholische Lösung.

Kein Zusatz	47 mg Dextrose verschwunden
6 ccm Pankreas	92 » » »
10 » »	48 » » »

## Versuch 17.

Lösung, wie oben auseinandergesetzt.

Kein Zusatz	10 mg Dextrose verschwunden
5 cem Lösung	70 „ „ „
8 „	10 „ „ „
11 „	0 „ „ „
16 „	0 „ „ „
25 „	0 „ „ „

## Versuch 18.

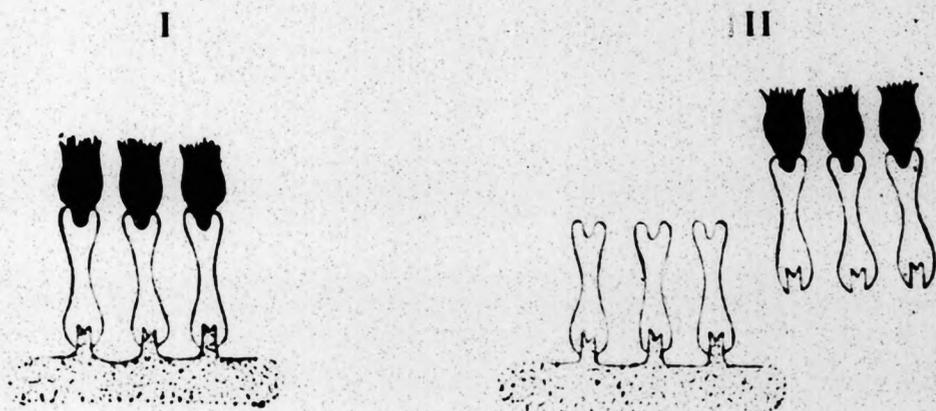
Kein Zusatz	128 mg Dextrose verschwunden
5 Pankreas	187 „ „ „
6 „	79 „ „ „
7 „	56(?) „ „ „
8 „	68(?) „ „ „
9 „	13 „ „ „

Man findet also ein Maximum der glykolytischen Wirkung, wenn man 75 g Muskeln mit etwa 0,8 g Pankreas oder etwas weniger kombiniert. Darüber hinaus sinkt die Wirkung. 2 g Pankreas hebt die Wirkung bereits ganz auf. Dieser Umstand hat mich monatelang genarrt: er ist die Ursache, daß die 2. Mitteilung sich so lange verzögert hat.

Es fragt sich, wie man sich diese eigentümliche Erscheinung erklären soll. Man könnte im Pankreas zwei Körper annehmen, einen fördernden und einen hemmenden. Dagegen spricht, daß ich die Hemmung durch Mehrzusatz in ganz der gleichen Weise erhielt, als ich das ganze Pankreas, den gekochten und den ungekochten Alkoholextrakt oder die Alkoholfällung verwendete. Die beiden Körper hätten also ganz gleiche Löslichkeitsverhältnisse, und trotzdem würde immer erst der eine, dann der andere wirken. Dagegen bietet sich ein gutes Analogon in dem, was Ehrlich Komplementablenkung nennt. Neisser und Wechsberg<sup>1)</sup> haben gefunden, daß bei der Abtötung von Bakterien durch baktericide Sera, zu der ja ein

<sup>1)</sup> M. Neisser u. F. Wechsberg, Münchener Medizin. Wochenschrift, 1901, Nr. 18.

Zusammenwirken von Amboceptor und Komplement erforderlich ist, ein Mehrzusatz von Amboceptor die Wirkung hemmt, unter Umständen ganz aufhebt. Sie veranschaulichen die Erscheinung durch das folgende schematische Bild:



Bei I würden Bakterien, Komplement und Amboceptor gerade in richtigem Verhältnisse stehn, bei II dagegen würde ein Überschuß des Amboceptors es bewirken können, daß die Abtötung der Bakterien ausbleibt. Ob hier wirklich eine volle Analogie zu dieser Komplementablenkung vorliegt, oder, ob die Hemmung durch Überschuß hier andere Gründe hat, wird sich erst entscheiden lassen, wenn die Beziehungen zwischen Zucker, Aktivator und glykolytischem Ferment durchsichtiger geworden sind.

Dagegen läßt sich sofort etwas anderes aufklären. Ich habe in der 1. Mitteilung beschrieben, daß Blutserum die Reaktion stört, andererseits habe ich inzwischen eine Reihe von Fällen beobachtet, bei denen die Entblutung der Katzen unvollständig war, und bei denen das bluthaltige Muskelfleisch bereits ohne Zusatz von Pankreas eine nicht unbedeutliche glykolytische Wirkung entfaltete (Versuch 1, 4—7, 9—16, 18). Insbesondere konnte ich dies ganz regelmäßig an Rindfleisch beobachten, das ich frisch vom Schlachthaus bezog und das natürlich immer Blut enthält. 40 ccm Muskelsaft ließen bis zu 150 mg Dextrose, sogar noch mehr verschwinden. Ja, in einigen Fällen sah ich, daß Pankreaszusatz die Glykolyse nicht begünstigte, sondern die bestehende hemmte.

## Versuch 19.

## Rindfleisch. Pankreaslösung.

Kein Zusatz	116 mg Dextrose verschwunden
5 Plerosin	81 » » »
8 »	66 » » »

Die Auflösung gab:

## Versuch 20.

## Katzenfleisch. Katzenserum. Gekochter Alkoholextrakt von Rindspankreas.

Kein Zusatz	0 mg Dextrose verschwunden
8 ccm Pankreasextrakt	107 » » »
8 » » + 7 ccm Serum	75 » » »
7 » Serum	50 » » »
4 » Pankreasextrakt + 3 ccm Serum	100 » » »

Das Blutserum enthält also selbst Aktivator, und bluthaltige Muskeln zeigen daher ohne weiteren Zusatz Glykolyse. Setzt man zu derartigen Muskeln Pankreas, so tritt eine Hemmung durch Mehrzusatz ein, während sich wenig Serum und wenig Pankreas zu guter Wirkung summieren. So hat mich die Überschubhemmung zur irrthümlichen Annahme eines Antiferments geführt.

Ich hoffe, bald über die Isolierung des glykolytischen Ferments der Muskeln, über die Spaltungsprodukte und über Tierversuche berichten zu können. Dann werde ich auf die Literatur genau eingehen können. Heute nur eine kurze Bemerkung. Da ich jetzt gefunden habe, daß bluthaltiges Fleisch auch ohne Pankreaszusatz Glykolyse zeigt, so könnte Stoklasa<sup>1)</sup> das als eine Bestätigung seiner Angaben auffassen. Das ist deshalb nicht der Fall, weil bei der Muskelglykolyse keine irgend erhebliche Produktion von Kohlensäure zu beobachten ist. Da Stoklasa immer die berechnete Menge Kohlensäure findet, so muß er Bakterienwirkung gesehen haben und keine fermentative Glykolyse. Auch ist das Muskelferment außerordentlich empfindlich gegen saure Reaktion, ein weiterer Be-

<sup>1)</sup> J. Stoklasa, Centralbl. f. Physiol., 1903, Nr. 17. Dasselbst sind seine und seiner Schüler Arbeiten zitiert.

weis, daß Stoklasa nur Bakterien in Händen gehabt hat. Ein Zusatz von 1—2% Toluol genügt in einer eiweißfreien Lösung. Ich habe mich aber wiederholt davon überzeugt, daß der eiweißhaltige Muskelsaft trotz 2% Toluol am nächsten Tage von Bakterien geradezu wimmelt. Battelli<sup>1)</sup> und Hirsch<sup>2)</sup> haben dasselbe beobachtet. — Daß meine Versuche nicht durch Bakterien vorgetäuscht wurden, ergibt sich mit Sicherheit aus der beschriebenen Hemmung durch Mehrzusatz.

---

<sup>1)</sup> F. Battelli, C. r. 14. Dez. 1903.

<sup>2)</sup> R. Hirsch, Hofmeisters Beitr., Bd. 4, S. 535, 1903.