

# Über die Einwirkung bisher unbekannter Bestandteile des Pankreas auf den Zuckerabbau.

## II. Mitteilung.

Von

**E. Vahlen.**

(Der Redaktion zugegangen am 21. Februar 1914.)

In einer früher unter dem gleichen Titel erschienenen Abhandlung<sup>1)</sup> habe ich die Wirkungen zweier neuer Pankreasbestandteile beschrieben. Der eine beschleunigte, der andere verzögerte die Alkoholgärung. Im Zusammenhang damit wurden allgemeine Betrachtungen über den intermediären Zuckerstoffwechsel vorgetragen sowie mehrere Tierversuche beschrieben.

Meine erste vorläufige Mitteilung<sup>2)</sup> enthält in aller Kürze die Gesichtspunkte, die mich beim Aufsuchen jener Stoffe geleitet haben. Es heißt dort:

«Es sind chemische Verbindungen bekannt, die, ohne selbst eine fermentative Spaltung auszuführen, eine Steigerung oder Verringerung einer vitalen Stoffzersetzung bewirken. Solche Substanzen sind z. B. Chinin und Salicylsäure, von denen die eine den Eiweißstoffwechsel verringert, die andere steigert. Ich kann mir nicht denken, daß es sich um eine andere als rein katalytische Wirkung handelt.»

Alle Stoffe, die in den Organismus eintreten, reagieren mit seinen Bestandteilen entweder auf Grund chemischer Affinitäten oder sie wirken katalytisch. Von den Schwermetallsalzen wissen wir z. B., daß sie mit den wichtigsten Bestandteilen aller Zellen, den Proteinstoffen, chemische Verbindungen eingehen. Darauf führen wir ihre entzündungserregende und ätzende Wirkung zurück. Welche entferntere Allgemeinwirkungen

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 59 (1909), S. 194.

<sup>2)</sup> Pankreas und intermediärer Stoffwechsel. Zentralbl. f. Physiologie, Bd. 22.

mancher Schwermetalle, wie sie vorzüglich als Symptome chronischer Vergiftung in die Erscheinung treten, auf chemischen Reaktionen beruhen oder katalytischer Natur sind, können wir nicht sagen. Im allgemeinen ist man bei Giften, die schon in außerordentlich geringen Quantitäten beträchtliche Wirkungen im lebenden Organismus hervorrufen und mit Bausteinen desselben in keinerlei nachweisbare Reaktion treten, geneigt, eine katalytische Wirkung anzunehmen. Man hat deshalb sehr früh die Bakterientoxine mit den am längsten bekannten Katalysatoren der lebenden Geschöpfe, den Enzymen, in Parallele gesetzt. Diese Auffassung hat in der Entdeckung der Antifermente, die nur nach Kenntnis und im unmittelbaren Hinblick auf die Antitoxine gefunden werden konnten, eine gewisse Begründung erfahren. Daß ein Stoff schon in sehr geringer Menge außerordentliche Wirkungen, die bisher auf chemische Reaktionen nicht zurückgeführt werden konnten, entfaltet, beweist noch nichts für seine katalytische Natur. Katalytische Wirkung bedeutet Beschleunigung (oder Verlangsamung) einer chemischen Reaktion. Die Behauptung, daß ein Stoff katalytisch im Organismus wirkt, ist erst bewiesen, wenn diejenige chemische Reaktion aufgezeigt werden kann, die durch ihn beschleunigt oder verlangsamt wird. Obige Meinung, die Wirkung von Chinin und Salicylsäure auf den Eiweißstoffwechsel sei eine katalytische, bleibt nach wie vor hypothetisch. Die Eiweißzersetzung im Organismus bis zu den Endprodukten, Kohlensäure, Wasser, Ammoniak, Harnstoff usw., bewegt sich gewiß nicht nur in einer Richtung dem Ziele zu. Vielmehr werden sich von einer Hauptlinie Seitenzweige abbiegen, die, verschiedenen Verlauf nehmend und sich mannigfach durchkreuzend, früher oder später sich mit jener wieder vereinigen. An jeder Stelle dieses Stromes der Zersetzungen kann ein Katalysator eingreifen, und indem er eine einzelne Etappe beschleunigt oder verzögert, auf das Gesamtergebnis einen bestimmenden Einfluß ausüben. Die große Zahl und Mannigfaltigkeit der hier ineinander greifenden Prozesse macht es überaus schwierig, gerade den Punkt herauszufinden, an dem jene auf das Chinin und die Salicylsäure bezügliche Hypothese geprüft werden kann.

Viel einfacher liegt die Sache beim intermediären Stoffwechsel der Kohlenhydrate. Diese gehen alle erst in Hexosen über, ehe sie zu Kohlensäure und Wasser oxydiert werden. Vor diesem oxydativen Zerfall liegt eine Spaltung der Hexose, die durch einen vom Pankreas in Umlauf gesetzten Stoff beschleunigt werden muß.<sup>1)</sup> Welcher Art diese Spaltung sein mochte, darüber bestand weder damals eine allgemein gültige Vorstellung, noch existiert heute eine solche. Aber ich dachte mir, daß jener unbekannte Pankreasstoff, ohne selbst den Zucker zu zersetzen, auf irgend eine auch außerhalb des Organismus vorkommende enzymatische Zuckerspaltung beschleunigend wirken werde. Deshalb bediente ich mich der alkoholischen Gärung, mochte sie nun wirklich einen regelmäßigen Bestandteil der intermediären Zuckerverzersetzung ausmachen oder nicht, als Reagens bei seiner Auffindung. Doch wäre ich damit ohne eine weitere Annahme nicht zum Ziele gelangt. Wie nämlich der aus der Schilddrüse isolierte Stoff der inneren Sekretion sich widerstandsfähig gegen Säure und Alkali erwies, so vindizierte ich ähnliche Eigenschaften auch meinem noch unbekanntem Pankreas-Katalysator. Darum benutzte ich zu seiner Isolierung von Anfang an Säure und Alkali, von denen ich erstere in Siedehitze auf Pankreas einwirken ließ. Auf diese Weise allein gelang es mir, die Existenz eines Stoffes darzutun, der eine überzeugende Wirkung auf die alkoholische Gärung ausübte.

Nun trat aber sehr frühzeitig, schon als die erste vorläufige Mitteilung im Druck war, eine nichts weniger als vorausgesehene Schwierigkeit in den Weg. Einige der dargestellten Präparate beschleunigten nämlich die alkoholische Gärung nicht nur nicht, sondern verzögerten sie sogar in erheblichem Grade. Zwei Möglichkeiten boten sich zur Erklärung dar. Es konnte ein und derselbe Stoff je nach Umständen die Gärung beschleunigen oder verzögern. Diese Annahme wurde sogleich zurückgewiesen, da die alkoholische Gärung nicht wie die meisten durch Enzyme bewirkten Spaltungen ein reversibler Prozeß ist. Es blieb also nichts anderes übrig, als jenen Antagonismus auf die Existenz zweier verschiedener Stoffe zurückzuführen. Wäre

<sup>1)</sup> S. meine 1. Mitteilung, l. c., S. 195—197.

es möglich gewesen, diese beiden Stoffe, die selbstverständlich zunächst als Gemenge von wechselnder Überlegenheit des einen oder des andern in meine Hand gelangten, an einem einfachen und in seinem Verlauf genau bekannten Prozeß, wie z. B. die Zuckerinversion zu prüfen, so wäre ich leichter und rascher zu der Einsicht in ihre Wirkungsweise und ihre wechselseitige Beziehung gelangt. Die alkoholische Gärung ist aber, wie wir durch Buchners und seiner Schüler Studien mit Hefepreßsaft wissen, ein sehr komplizierter Prozeß. Dem an sich schon nicht einfachen Vorgang der Zuckerzersetzung laufen nebenher, ihn mittelbar oder unmittelbar beeinflussend, die Wirkung anderer Enzyme, die die Zymase schädigen, sowie Stoffe, wie das Coferment Buchners, die die alkoholische Gärung beschleunigen können. In wieviel höherem Grade muß nicht die Mannigfaltigkeit dieser Faktoren sich bei der Gärung durch lebende Hefe geltend machen! Werden nicht die vitalen Zellfunktionen durch den Ablauf der Gärung, je nachdem sie durch Dazwischenkunft eines fremden Katalysators beschleunigt oder verlangsamt wird, notwendig gewisse Modifikationen erleiden, deren Rückschlag auf die Enzymwirkung die Kohlensäureentwicklung und damit diejenige Erscheinung in unkontrollierbarer Weise verändert, an deren innerhalb gewisser Grenzen verbürgter Beständigkeit die Wirkungsintensität des zugesetzten Pankreasstoffes gemessen werden sollte? Kurz, die alkoholische Gärung, so unschätzbare Dienste sie zur Auffindung der beiden Pankreaskatalysatoren geleistet hat, erwies sich bei der Weiterführung der Untersuchung als eine sehr mangelhafte Stütze. Gleichwohl war sie die einzige.

Es ist unnütz, in das Detail zahlloser, sich widersprechender Versuche und der mannigfaltigen Hypothesen, die den Weg zu neuen Experimenten eröffneten, einzugehen, nachdem schließlich der ruhende Pol in der Erscheinungen Flucht gefunden worden ist. Alle Betrachtungen drängten mit Notwendigkeit diese Vorstellung auf: Die beiden Pankreaskatalysatoren, deren einer die alkoholische Gärung beschleunigt, der andere sie verzögert, können durch molekulare Umlagerung ineinander verwandelt werden.

Die molekularen Umlagerungen organischer Stoffe kann man in zwei große Gruppen teilen. Entweder haben die betreffenden Stoffe verschiedene Konstitution oder die gleiche. Zu jenen gehört die allererste, am längsten bekannte und auch physiologisch interessante Umlagerung von isocyansaurem Ammoniak und Harnstoff. Seitdem sind zahlreiche Beispiele solcher Umlagerungen sowohl in der aliphatischen wie der aromatischen Reihe gefunden worden. Daß meine beiden Pankreaskatalysatoren dieser Klasse angehören möchten, schien mir im höchsten Grade unwahrscheinlich. Natürlich leuchtet es ein, daß Stoffe verschiedener Konstitution auch verschiedene Wirkungen haben können. Aber daß diese bezüglich ein und desselben Vorganges genau entgegengesetzt ist, verlangt doch auch eine Gegensätzlichkeit im Bau der ineinander umwandelbaren Moleküle. Eine solche ist bei Verschiedenheit der Konstitution kaum denkbar. Sie besteht aber bei der zweiten Klasse von Stoffen, welche durch molekulare Umlagerung ineinander übergehen, ohne dabei ihre Konstitution zu ändern. Sie verändern nur ihre Konfiguration, die relative Lagerung der Atome im Raum, sie sind Stereoisomere. Daß derartige Unterschiede im Bau der Moleküle für die Wirkung von Enzymen in Frage kommen können, hat, worauf ich schon früher<sup>1)</sup> hingewiesen habe, E. Fischer gezeigt. Er hat Glukoside verschiedener Konfiguration dargestellt und gefunden, daß die einen nur von dem Emulsin, die andern nur von den Enzymen des Hefeinfuses gespalten werden. Er hat dafür folgende Erklärung<sup>2)</sup> gegeben: «Invertin und Emulsin haben bekanntlich manche Ähnlichkeit mit den Proteinstoffen und besitzen wie jene unzweifelhaft ein asymmetrisch gebautes Molekül. Ihre beschränkte Wirkung auf die Glukoside ließe sich also durch die Annahme erklären, daß nur bei ähnlichem geometrischen Bau diejenige Annäherung der Moleküle stattfinden kann, welche zur Auslösung des chemischen Vorgangs erforderlich ist. Um ein Bild zu gebrauchen, will ich sagen, daß Enzym und Glukosid wie Schloß und Schlüssel zueinander

<sup>1)</sup> l. c., S. 197.

<sup>2)</sup> Ber. d. d. chem. Gesellsch., Bd. 27 (1894), S. 2992.

passen müssen, um eine chemische Wirkung aufeinander ausüben zu können.»

Ich führe die E. Fischerschen Versuche und Erklärungen als Beispiel dafür an, daß stereomere Verschiedenheiten überhaupt bei katalytischen Phänomenen eine Rolle spielen können. Im übrigen bestehen zwischen jenen Erscheinungen und den Wirkungen meiner Pankreasstoffe prinzipielle Unterschiede. Erstens handelt es sich dort um Enzyme, also Stoffe, die direkt auf das Substrat einwirken, was meine Pankreaskatalysatoren nicht tun. Zweitens aber stehen in jenem Falle sich Wirkung und Wirkungslosigkeit gegenüber. Zwischen meinen beiden Pankreaskatalysatoren herrscht ein ganz anderer Gegensatz, hier dreht es sich nicht um Wirkung und Nichtwirkung, sondern um zwei einander entgegengesetzte Wirkungen, um Beschleunigung und Verzögerung. Wollte man den Vergleich mit dem Schlüssel und dem Schloß meinem Falle anpassen, so wäre er folgendermaßen zu wenden: Meine beiden Pankreaskatalysatoren sind zwei Schlüsseln vergleichbar, die entgegengesetzte Konfiguration aufweisen, trotzdem aber in dasselbe Schloß (Zymase) passen, dessen Konfiguration sich selbstverständlich doch nur mit derjenigen des einen oder anderen Schlüssels decken könnte, ferner aber kann der eine Schlüssel das Schloß nur auf-, der andere nur zuschließen.

Zum Verständnis der entgegengesetzten Wirkung der beiden Pankreaskatalysatoren muß man sich nach einer anderen Vorstellung umsehen. Man mache folgende Annahme: Das Enzym sei wie eine Schiffsschraube, ein Propeller gebaut. Seine Wirkung sei eine Funktion der Masse und der Geschwindigkeit, mit der er das Substrat durchteilt. Es sei dann der positive Pankreaskatalysator, der die Wirkung dieses Enzyms beschleunigt, ein ähnlich gebauter Propeller, der sich in derselben Richtung dreht und dessen Axe der Axe des Enzympropellers aufgesetzt ist. Es leuchtet ein, daß dann die Arbeitsleistung beider Propeller bei gleicher Geschwindigkeit erheblich größer sein muß als die des ersten allein. Ferner: Ein Propeller ist so gebaut, daß die Krümmungen seiner Flügel in einer Schraubensfläche verlaufen. Und zwar muß

bei dem zweiten Propeller, dem positiven Pankreaskatalysator, die Krümmung der Schraubenfläche im großen und ganzen derjenigen des Enzympropellers parallel sein. Nun mag der Katalysatorpropeller durch Verschiebung seiner Atome im Raum sich in einen andern verwandeln, dessen Flügel in der entgegengesetzten Schraubenfläche gekrümmt seien, diese also jetzt rechts herumliief, wenn sie vorher links herumliief oder umgekehrt. Bleibt die Bewegungsrichtung unverändert, so muß dieser neue Propeller die Wirkung des Enzympropellers verzögern. Denn er muß gradeso wirken, als wenn der Propeller des positiven Katalysators seine Konfiguration nicht geändert hätte, sondern mit gleicher Geschwindigkeit in entgegengesetzter Richtung wie vorher, also auch wie der Enzympropeller sich um seine Achse drehte.

Bevor ich zur Darstellung der beiden Pankreaskatalysatoren übergehe, sollen sie Namen erhalten, der eine, der die alkoholische Gärung beschleunigt, mag Metabolin, der andere, der sie verlangsamt, Antibolin heißen. Frisches Rinderpankreas von Fett und Bindegewebe so weit als möglich mit Schere und Messer befreit, wird durch die Fleischhackmaschine getrieben und dann mit dem gleichen Gewicht zweiprozentiger Schwefelsäure eine Stunde lang gekocht. Nach dem Abkühlen filtriert man, wäscht gründlich aus, bis eine Probe des Filtrats weder Reaktion auf Schwefelsäure noch Biuretraktion gibt, und trocknet. Darauf Fett und Fettsäuren mit Äther extrahiert und wieder getrocknet. Das so gewonnene Produkt kann zu einem staubfeinen Pulver zerrieben werden. Man kann auch entfettetes und getrocknetes Pankreas direkt für die Weiterverarbeitung verwenden. Die beschriebene Vorbereitung mit Schwefelsäure ist nicht unbedingt notwendig, erweist sich aber als sehr vorteilhaft. Das Pankreaspulver wird nun mit Chlorzink auf hohe Temperatur erhitzt.<sup>1)</sup> Man wendet eine alkoholische Chlorzinklösung an, die in 100 ccm 50 g Chlorzink enthält, und nimmt auf je 10 g Pankreaspulver 30 ccm dieser Chlorzinklösung. Die gründlich verriebene Mischung wird unter öfterem Um-

<sup>1)</sup> Die Chlorzinkmethode zur Darstellung des Metabolins ist zum Patent angemeldet.

rühren auf dem Wasserbad eingedampft und dann einige Zeit auf 135—140° erhitzt. Und zwar so lange, bis eine Probe des Reaktionsproduktes, mit Natronlauge und Kupfersulfat erwärmt, keine Biuretraktion mehr erkennen läßt.

Bei 10 g Ausgangsmaterial genügt dazu  $\frac{3}{4}$ —1 Stunde. Man hat dann eine schwarzbraune Schmiere vor sich, die nach dem Erkalten eine spröde Masse darstellt. Läßt man Chlorzink in nicht genügender Konzentration und bei niedriger Temperatur oder nicht lange genug auf Pankreaspulver einwirken, so gibt das schwarzbraune Produkt immer noch deutliche Biuretreaktion, die vorzüglich dann sichtbar wird, wenn man mit starker Natronlauge behandelt, Kupfersulfat hinzufügt, erwärmt, dann mit Wasser verdünnt und filtriert. Aus einem solchen Reaktionsprodukt läßt sich auch ein die Biuretreaktion gebendes Metabolin isolieren, das sich im großen und ganzen, bezüglich seiner Reaktionen, seiner Wirkung auf die Gärung und seiner Umwandlung in Antibolin ebenso verhält wie biuretfreies Metabolin. Ich nehme an, daß jenes Metabolin noch in näherer Verwandtschaft zu Protein steht, und bezeichne es daher als Proteinmetabolin und sein Umwandlungsprodukt als Proteinantibolin. Solche Proteinmetaboline wurden ursprünglich durch abwechselnde Einwirkung von Säure und Alkali in der Wärme auf Pankreas gewonnen, die natürlich je nach dem größeren oder geringeren Rest von Protein, den sie noch enthielten, verschiedene Zusammensetzung aufweisen mußten. Aber solche Proteinmetaboline waren es, an denen zuerst die Wirkung auf die Gärung und die molekulare Umlagerung in Proteinantiboline aufgefunden wurde. Doch gelang es erst mit der Ausarbeitung der Chlorzinkmethode, biuretfreies Metabolin in hinreichender Ausbeute darzustellen, nachdem es allerdings schon vorher durch energischere, aber schwer in bestimmten Grenzen zu haltende Zersetzung von Proteinmetabolin aufgefunden worden war. Die Wirkung des Chlorzinks bei der Metabolindarstellung ist nicht weiter aufgeklärt worden. Zur Spaltung von Proteinstoffen benützt man Säuren, Alkalien und Enzyme. Diese Reagentien wirken unter Addition der Elemente des Wassers — hydrolytisch — spaltend. Chlorzink hat gerade die entgegen-

gesetzte Wirkung. Es entzieht zwei nebeneinander vorhandenen Molekülen die Elemente des Wassers und läßt so Kondensationen zustande kommen. Zu diesem Zweck vorzüglich wird das Chlorzink in der organischen Synthese so außerordentlich häufig verwendet.

Das Chlorzinkreaktionsprodukt, das nach dem Abkühlen hart geworden ist und ohne Gefahr, das Gefäß zu zertrümmern, nur mit großen Schwierigkeiten herauszubringen ist, wird mit wenig Wasser übergossen und auf dem Wasserbade so lange erwärmt, bis ein weicher, dicker Brei entstanden ist. Nun fügt man nach dem Abkühlen unter Umrühren Natronlauge bis zur stark alkalischen Reaktion hinzu. Dabei entsteht eine flockige Ausscheidung von Zinkhydroxyd. Man hütet sich aber, soviel Natronlauge hinzuzufügen, daß dieser Niederschlag sich wieder löst, sondern man setzt zu dem gut umgerührten, alkalisch reagierenden Brei Essigsäure bis zur sauren Reaktion. Nun löst sich das Zinkhydroxyd auf und es bildet sich eine dunkelbraune, harzige Ausscheidung. Es wird jetzt noch zum Kochen erhitzt und filtriert, der Filtrerrückstand wird gründlich ausgewaschen, bis eine Probe des Filtrats keine Reaktion auf Zink mehr gibt. (Zusatz von Schwefelammonium zur alkalisierten Lösung.) Den zinkfreien Filtrerrückstand bringt man in eine Porzellanschale und übergießt mit konzentrierter Milchsäure (offizinelle), erhitzt unter Umrühren kurze Zeit, verdünnt mit dem zehnfachen Volumen Wasser und erhitzt abermals bis zum Sieden, es muß sich alles bis auf einen kleinen Rest lösen. Dann wird heiß filtriert. Nun fügt man soviel Natronlauge, daß die Lösung nur mehr schwach sauer reagiert, und eine gesättigte Lösung von Kupferacetat hinzu, erwärmt, bis der gebildete Niederschlag sich zu Boden gesenkt hat, und filtriert. Diese Metabolinkupferverbindung wird gründlich ausgewaschen und dann mit Schwefelsäure zerlegt, das unlösliche Metabolin abfiltriert, gewaschen und getrocknet. Dieses Metabolin ist in Wasser, auch in siedendem, vollkommen unlöslich. Ebenso in andern Flüssigkeiten. Es löst sich in Alkalien, ätzenden wie kohlen-sauren, und wird daraus durch Säuren gefällt. Gleichwohl enthält es keine Carboxylgruppe, wofür

wir weiter unten noch einen weiteren Beweis kennen lernen werden. Hier mag die Feststellung genügen, daß das Metabolin zwar von Kalkwasser leicht gelöst wird, aber beim Kochen mit Calciumcarbonat nichts in Lösung geht. Das Metabolin treibt also Kohlensäure aus ihren Verbindungen nicht aus. Stellt man mittels Natron- oder Kalilauge eine vollkommen neutrale Metabolinlösung her und verdampft sie zur Trockne, so erhält man ein in Wasser und Weingeist lösliches Pulver von neutraler Reaktion. Zur Reinigung des Metabolins bedient man sich am besten des Kupfersalzes, das man durch Versetzen einer verdünnten neutralen Metabolinalkalilösung mit einer verdünnten Kupferacetatlösung darstellt, abfiltriert, erst mit Wasser, dann mit heißem Weingeist, dem etwas verdünnte Essigsäure zugesetzt ist, auswäscht. Aus dem Kupfermetabolin kann man mit Säure das Metabolin wieder in Freiheit setzen. Das Metabolin stellt ein amorphes braunes Pulver dar, das trotz aller erdenklicher Mittel nicht farblos zu bekommen ist. Woraus ich schließe, daß diese dunkle Farbe ihm eigentümlich zukommen, nicht nur auf Beimengungen beruhen möchte. Eine alkalische Metabolinlösung, soweit verdünnt, daß sie nur mehr gelb gefärbt ist, gibt nicht die Biuretreaktion. Ebenso negativ sind die Millonsche und die Ninhydrinreaktion.

Das Metabolin in vollkommen reinem Zustande herzustellen, ist bisher nicht gelungen. Gleichwohl werden im folgenden einige Analysenresultate mitgeteilt, um eine Vorstellung von seiner Zusammensetzung zu geben.

0,1562 g Substanz gaben 0,3436 g  $\text{CO}_2$  und 0,0960 g  $\text{H}_2\text{O}$   
= 59,99% C und 6,83% H.

0,1320 g Substanz gaben 0,2845 g  $\text{CO}_2$  und 0,0809 g  $\text{H}_2\text{O}$   
= 58,78% C und 6,80% H.

0,1488 g Substanz gaben 0,3216 g  $\text{CO}_2$  und 0,0840 g  $\text{H}_2\text{O}$   
= 58,94% C und 6,29% H.

0,1069 g Substanz gaben 8,8 ccm N bei 22° u. 742 mm B. = 9,96% N.

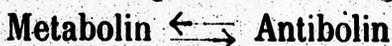
0,1021 g Substanz gaben 8,5 ccm N bei 23° u. 746 mm B. = 9,22% N.

0,1989 g Kupfersalz gaben 0,0252 g  $\text{CuO}$  = 10,12% Cu

0,1367 g Kupfersalz gaben 0,0154 g  $\text{CuO}$  = 9,00% Cu

0,1725 g Kupfersalz gaben 0,0170 g  $\text{CuO}$  = 8,16% Cu

Das Metabolin geht durch molekulare Umlagerung in Antibolin über. Während Metabolin in Wasser, selbst in kochendem, vollkommen unlöslich ist, löst sich das Antibolin leicht in kaltem Wasser und ist auch in kaltem Weingeist löslich. Zur Umwandlung bedient man sich der Milchsäure. Bringt man frisch gefälltes oder getrocknetes Metabolin in konzentrierte Milchsäure (die officinelle) und erwärmt, so geht es vollkommen in Lösung und scheidet sich auch beim Verdünnen mit Wasser oder Alkohol nicht wieder aus. In einer solchen Lösung schlagen alle Mineralsäuren mit Ausnahme der Phosphorsäure das Metabolin wieder nieder. Am wirksamsten sind Salpetersäure und Schwefelsäure. Die Quantität des ausgeschiedenen Metabolins hängt von dem relativen Verhältnis von Schwefelsäure und Milchsäure ab. Je mehr Milchsäure vorhanden ist, um so mehr Schwefelsäure bedarf es, um die Umwandlung von Antibolin in Metabolin zu bewirken. Quantitativ erfolgt sie wohl nie. Man kann im Filtrat vom Niederschlag immer noch mit weiter unten zu besprechenden Reaktionen Antibolin nachweisen. Bezüglich der Umlagerung



wird ein Gleichgewichtszustand eintreten, der je nach dem Überwiegen der Momente, die die eine oder die andere Umlagerung herbeiführen, sich nach der einen oder anderen Seite verschieben muß. Die umwandelnde Wirkung der Salzsäure ist nicht so stark wie die der Salpetersäure oder Schwefelsäure. Fällt man eine milchsäurehaltige Antibolinlösung mit Salzsäure, filtriert sogleich ab und wäscht mit kaltem Wasser gründlich aus, so geht ein erheblicher Teil wieder in Lösung. Löst man aber getrocknetes Metabolinnatrium und fällt mit Salzsäure, so geht beim Waschen mit kaltem Wasser nichts wieder in Lösung. Aus dem verschiedenen Verhalten zwischen Salzsäure und Schwefelsäure schloß ich, daß der Sulfogruppe bei der Umwandlung von Antibolin in Metabolin eine besondere Rolle zukommen mußte. Diese Vermutung hat sich bestätigt, nicht allein zeigte sich eine Reihe von Sulfosäuren in gedachter Richtung wirksam, sondern erwiesen sich zum Teil, die einen mehr, die andern weniger, stärker wirksam, insofern im Filtrat

vom Schwefelsäureniederschlag oft noch ein Niederschlag durch Sulfosäure zu erzielen war.

Folgende Sulfosäuren wurden bisher geprüft:

1. Benzolsulfosäure.
2. Phenolsulfosäure, benutzt in der als Aseptol bezeichneten 33<sup>1</sup>/<sub>3</sub> %igen Lösung von einem Gemenge der ortho- und para-Säure oder als paraphenolsulfosaures Natron.
3. Sulfosalicylsäure.
4. Sulfanilsäure = p-Amidobenzolsulfosäure. Diese ist in Wasser schwer löslich, so daß es anfangs schwierig war, ihre Wirkung darzutun, was gleichwohl später unzweifelhaft gelang.
5. Ichthyolsulfosäure.
6. Dijodparaphenolsulfosäure, die als Sozodolsäure therapeutische Verwendung findet.
7. Meta-jod-ortho-oxychinolinsulfosäure, die als Arzneimittel den Namen Loretin führt. Auch hier wie bei der Sulfanilsäure bietet die Schwerlöslichkeit der Substanz einige Schwierigkeit zum deutlichen Nachweis der Wirkung.

8. Sulfocyanwasserstoffsäure.

Dagegen wurde Antibolin nicht in Metabolin umgewandelt von:

1. Äthylsulfat,
2. Sulfonal, Trional,
3. von der, einen normalen Bestandteil tierischer Gewebe bildenden Amido-Äthylsulfosäure, dem Taurin, auch nicht in Form der wasserlöslichen Taurocholsäure. Die von Hammarsten in der Galle von Haifischen aufgefundenen Scymnolschwefelsäuren standen mir nicht zur Verfügung.

Die mit den genannten Sulfosäuren erhaltenen Niederschläge sind in Wasser unlöslich, werden aber durch Milchsäure wieder löslich gemacht. Ausgenommen der mit Ichthyolsulfosäure erzeugte Niederschlag. Dieser wird durch Milchsäure nicht wieder gelöst, er stellt eine Verbindung der Ichthyolsulfosäure und Metabolin dar, die voneinander zu trennen mir bisher nicht gelungen ist.

Eine ganz andere Methode zur Umlagerung Antibolin → Metabolin besteht in der Anwendung von Salzen. Fügt man

zu einer milchsäurehaltigen Antibolinlösung Ammoniumchlorid, Kochsalz, Calciumchlorid, Magnesiumsulfat, Natriumsulfat, so erhält man entweder schon in der Kälte, jedenfalls aber beim Kochen einen reichlichen Niederschlag, der sich nach dem Abfiltrieren als unlöslich selbst in kochendem Wasser erweist. Durch Milchsäure wird er aber wieder gelöst. Bei den genannten Salzen konnte man denken, daß Cl- oder SO<sub>4</sub>-Ion die Wirksamkeit bedingten. Aber ebenso gelingt die beschriebene Ausfällung mit essigsauen Salzen. Ja die Fällung mit essigsauem Natron ist besonders geeignet, um Metabolin möglichst rasch von sonst anhaftenden Säuren zu bekommen, die begreiflicherweise schwer aus dem kolloidalen Stoff durch Waschen wegzubringen sind.

Ich habe mich nicht damit begnügt, die Wasserlöslichkeit des Antibolins bei Anwesenheit von Milchsäure zu beobachten, sondern ich habe mich bemüht, das Antibolin frei von Milchsäure als wasserlösliches Pulver darzustellen. Eine wenig Milchsäure enthaltende Antibolinlösung wird gründlich mit Äther ausgeschüttelt, dann bei niedriger Temperatur, 30 – 40°, eingeeengt, nochmals mit Äther ausgeschüttelt und dann zur Trockne gebracht. Das Pulver, nochmals mit Äther behandelt und getrocknet, erweist sich als zum größten Teil in Wasser leicht löslich, durch schärferes Trocknen bei höherer Temperatur verliert das Antibolin immer mehr und mehr seine Löslichkeit, es wird in Metabolin verwandelt.

Eine wässrige, noch Milchsäure enthaltende Antibolinlösung verhielt sich gegen Reagentien folgendermaßen:

Quecksilberchlorid gibt keinen Niederschlag, auch nicht beim Kochen. Auch bei Zusatz von Alkohol nicht, wie man denn auch gleich in weingeistiger Lösung Sublimat hinzufügen kann, ohne einen Niederschlag zu bekommen.

Ebenso wie Quecksilbersublimat verhalten sich Eisenchlorid, Bleiacetat und Silbernitrat. Bas. Bleiacetat bringt zunächst keinen Niederschlag hervor, beim Kochen wird die Lösung opalescent und nach einiger Zeit setzt sich ein Niederschlag ab. Dieser tritt aber sogleich ein, wenn man etwas Ammoniak hinzufügt.

Kupferacetat und Zinkacetat bringen stets nach einiger Zeit Niederschläge hervor, sogleich beim Erhitzen.

Tannin bringt in der Kälte erst bei sehr hoher Konzentration und nach einiger Zeit einen Niederschlag hervor, der auf Zusatz von Alkohol verschwindet. Kocht man aber, so entsteht ein Niederschlag, der auf Zusatz von Alkohol nicht mehr verschwindet.

Ferrocyankalium und Ferricyankalium geben Niederschläge, ebenso Phosphorwolframsäure und Pikrinsäure.

Bezüglich der Umwandlung von Metabolin in Antibolin hat sich die Milchsäure besonders wirksam erwiesen. Damit ist ein Faktor gefunden, der auch innerhalb des Organismus diese Umlagerung bewirken wird, denn die Milchsäure bildet sich überall im Organismus. Ihre Entstehung ist an der sauren Reaktion ermüdeten und absterbender Organe schuld. Da sie auch bei Sauerstoffmangel auftritt, bei dem die rasche Verbrennung des Alkohols gestört sein wird, liegt es im Interesse des lebenden Organismus, daß in der weiteren Bildung dieses Giftes durch intermediäre Zuckerzersetzung eine Verzögerung eintritt. Eine solche wird aber durch Umwandlung von Metabolin in Antibolin bewirkt. Diese Überlegungen waren es, die mich zur Auffindung der merkwürdigen Beziehung der Milchsäure zur Umlagerung Metabolin  $\rightarrow$  Antibolin führten. Die entgegengesetzte Umlagerung Antibolin  $\rightarrow$  Metabolin auf einen regelmäßigen Bestandteil der tierischen Gewebe zurückzuführen, ist mir trotz vieler Betrachtungen und Versuche nicht gelungen. Daß Schwefelsäure und Sulfosäure in dieser Hinsicht eine erhebliche Rolle spielen sollten, ist kaum wahrscheinlich, zumal die stets vorhandene Sulfosäure, nämlich das Taurin, diese Wirkung, wie bereits gesagt, nicht besitzt.

Der Wirkung der Milchsäure entgegengesetzt ist diejenige der Mineralsäuren und der Sulfosäuren. Nun zeigt sich aber, daß Metabolin, welches, in Wasser gebracht und darin gekocht, sich als unlöslich erweist, bei Hinzufügen von ganz wenig Mineralsäure oder Sulfosäure sich auflöst. Wird noch mehr Mineralsäure oder Sulfosäure der Lösung hinzugefügt, so fällt wieder Metabolin aus. Man wird also kaum zur Annahme geneigt sein, daß die ursprüngliche Lösung auf Umwandlung in Antibolin beruhte. Anders verhält es sich aber

mit organischen Säuren. Essigsäure, Weinsäure, Citronensäure lösen ebenfalls in verdünntem Zustand und beim Erhitzen Metabolin, fallen aber, in größerer Menge der Lösung zugesetzt, dasselbe nicht wieder aus. Sollte es sich hier nicht in der Tat um Umwandlung von Metabolin in Antibolin handeln? Ehe ich auf Einzelheiten eingehe, muß erklärt werden, daß ich bisher nur für die Milchsäure den strikten Beweis geliefert habe, daß sie jene Umlagerung herbeiführt. Und so viel ist gewiß, daß, wenn z. B. Essigsäure die gleiche Fähigkeit besitzen sollte, sie an Wirksamkeit hinter der Milchsäure zurücksteht. Lösungen von Metabolin in Milchsäure verhalten sich anders als solche in Essigsäure. Letztere werden durch Aceton gefällt, erstere nicht, und zwar gilt dies für hohe und niedrige Konzentrationen von Milchsäure resp. Essigsäure. Aus einer wässrigen Milchsäure-Acetonlösung wird Metabolin durch Schwefelsäure kaum mehr, durch Aseptol erst nach längerer Dauer gefällt, woraus geschlossen wird, daß Aceton die Umwandlung Antibolin  $\rightarrow$  Metabolin hemmt. Alkohol verhält sich ebenso.

Es kommt noch weiteres hinzu, um zu zeigen, daß eine Lösung von Metabolin in verdünnter Mineralsäure und Sulfosäure oder in organischen Säuren, z. B. Essigsäure, noch keine Umwandlung in Antibolin zu bedeuten braucht. Metabolin beschleunigt die alkoholische Gärung. Man muß es dazu in neutraler Lösung verwenden, am besten, indem man mittels verdünnter Natronlauge eine neutrale Lösung von Metabolin herstellt, diese eindampft und vom Rückstand eine abgewogene Menge wieder in Wasser löst. Will man die verzögernde Wirkung des Antibolins auf die Gärung dartun, so kann man sich auch einer neutralen Lösung bedienen, die man durch Neutralisation einer Antibolinlösung mit Natronlauge gewinnt. Nun kann man aber auch saure Antibolinlösung direkt benutzen, indem man dafür sorgt, daß der Säurefaktor, den sie mitbringt, verschwindend gering ist gegen die Gesamtsäuremenge, die die Gärmischung enthält. Man erreicht dies dadurch, daß man der Gärmischung von vornherein eine gewisse Quantität Milchsäure hinzufügt. Zur Prüfung von Metabolinlösung, die minimale

Mengen von Sulfosäure oder Essigsäure enthält, kann man analog verfahren, indem man dem Gärgemisch eine Quantität Sulfosäure oder Essigsäure hinzufügt, gegen welche die in der Metabolinlösung enthaltenen Spuren davon verschwinden. Im ersteren Falle, Antibolin-Milchsäure, sieht man stets eine erhebliche Verlangsamung der Gärung. Im zweiten, Metabolin-Sulfosäure oder Metabolin-Essigsäure, eine Beschleunigung. Ja die Versuchsanordnung unter Anwendung von Sulfosäure ist besonders geeignet, die gärungsbeschleunigende Wirkung des Metabolins darzutun. Denn die Anwesenheit der Sulfosäure paralyisiert für eine gewisse Frist die im Gärgemisch vorhandenen und entstehenden Kräfte, welche die Tendenz haben, das Metabolin in Antibolin umzuwandeln.

Trotzdem ist die Möglichkeit nicht zu bestreiten, daß Essigsäure vielleicht doch Metabolin in Antibolin zu verwandeln imstande sei. Es kann schon sein, daß eine gewisse Quantität von Metabolin durch Essigsäure in Antibolin umgelagert wird, aber bereits ein Gleichgewicht zwischen diesen beiden eintritt, ehe ein erheblicher Überschuß an Antibolin gebildet worden ist.

Das Metabolin hat eine weitere merkwürdige Einwirkung auf die Hefe. Beobachtet man die beiden Eudiometerröhren, welche dieselbe Gärmischung enthalten mit dem einzigen Unterschied, daß der einen etwas Metabolin hinzugefügt worden ist, so sieht man in dieser letzteren, noch bevor die Gärung beginnt, eine eigentümliche Veränderung vor sich gehen. Die Hefe ballt sich zusammen und sinkt allmählich zu Boden. Wenn die Gärung lebhaft in Gang gekommen ist, löst sich diese Agglutination wieder, die Hefe beginnt zu steigen und sich im Rohre zu verteilen. Agglutination der Hefe durch bestimmte Zusätze, Säuren<sup>1)</sup> oder Borate<sup>2)</sup> ist bereits beschrieben worden. Von der Wirksamkeit vollkommen neutralen Metabolinnatriums mag zunächst folgendes Beispiel Zeugnis ablegen. Ein Gärgemisch aus 3 g Traubenzucker, 6 g Hefe und 120 ccm Wasser wird in zwei Eudiometerröhren zu je 54 ccm verteilt und in

<sup>1)</sup> Barendrecht, Zentralbl. f. Bakteriologie, 1901 (II), S. 623.

<sup>2)</sup> Henri Van Laer, Bull. de la soc. chimique de Belgique, Bd. 19, S. 31 und Malys Jahrb., Bd. 35 (1905), S. 911.

die eine 0,004 neutrales Metabolinnatrium hinzugefügt. Nach kaum einer Minute tritt in der Metabolinröhre eine starke Agglutination auf, also bei einer Verdünnung des Metabolins von 7,4 : 100000. Nicht immer zeigt eine solche Verdünnung des Metabolins eine derartige starke Wirkung. Die größere oder geringere Leichtigkeit, mit der die Agglutination zustande kommt, hängt von verschiedenen Umständen ab, die ich bisher nicht zum Gegenstand besonderen Studiums gemacht habe. Immer zeigt aber eine Metabolinkonzentration von 1 : 10000 eine deutlich agglutinierende Wirkung.

Anfangs bewirkten beide Sorten von Präparaten sowohl die gährungsbeschleunigende wie verlangsamende Agglutination. Letztere allerdings stets in geringerem Grade. Dieser Unterschied war so deutlich, daß ich aus einer rasch auftretenden starken Agglutination auf eine später auftretende Beschleunigung der Gärung schloß. Je mehr die Reinigung fortschritt und namentlich nachdem die Umlagerung  $M \rightarrow A$  durch Milchsäure gefunden war, um so deutlicher wurde auch der Unterschied in der agglutinierenden Wirkung. Schließlich wurden Antibolinpräparate gewonnen, die starke Verzögerung der Gärung ohne die geringste Agglutination zeigten. So mußte ich zu dem Urteil gelangen: Metabolin bewirkt Agglutination, Antibolin nicht. Wo gleichwohl eine Antibolinlösung noch Agglutination aufweist, muß angenommen werden, daß sie noch etwas Metabolin enthält. Denn ich bin bezüglich meiner beiden Pankreaskatalysatoren nicht in der glücklichen Lage, die beiden durch molekulare Umlagerung ineinander verwandelbaren Stoffe durch so unveränderliche Eigenschaften wie Krystallform, Schmelzpunkt oder wie bei der besonderen Gruppe der Spiegelbildisomeren durch die spezifische Rotation voneinander zu unterscheiden. Es gibt demnach kein Kriterium dafür, um zu entscheiden, ob eine Antibolinlösung vollkommen frei von Metabolin ist, oder noch einen gewissen Prozentsatz davon enthält.

Der Unterschied zwischen Metabolin und Antibolin hinsichtlich der Agglutination ist aber ein ganz anderer als der auf die Gärung sich erstreckende. Hier handelt es sich um zwei entgegengesetzte Wirkungen, dort um die Verschiedenheit

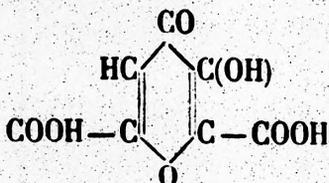
von Wirkung und Wirkungslosigkeit. Die Annahme, daß Antibolin agglutinationshemmend wirke, ist durch die Tatsache ausgeschlossen, daß eine gärungsverzögernde Antibolinlösung gelegentlich noch geringe Agglutination aufweisen kann. Denn, daß die Spuren von Metabolin in diesem Falle noch agglutinierend wirken, ist doch nur denkbar, wenn die gleichzeitig anwesende viel größere Quantität Antibolin sich nicht in entgegengesetztem Sinne — hemmend auf die Agglutination — betätigt, sondern sich einfach indifferent verhält. Ferner, die Agglutination bedeutet eine Einwirkung auf die lebende Hefe. Die entgegengesetzten Wirkungen von Metabolin und Antibolin auf die Gärung können, wie bereits dargelegt, nur durch Reaktion auf einen vom lebenden Organismus trennbaren Stoff, eben dem Enzym der alkoholischen Gärung zustande kommen.

Wie verhält sich nun eine sulfosäure- oder essigsäurehaltige Metabolinlösung bei gleichzeitigem Zusatz von Sulfosäure und Essigsäure zum Gärgemisch bezüglich der Agglutination? Sie bringen sie noch hervor. In gleicher Weise mit Milchsäure angestellte Versuche zeigen keine Agglutination mehr.

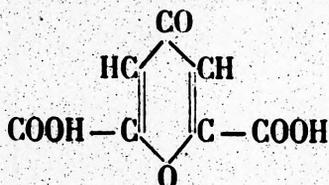
Es ist bisher gezeigt worden, daß die Umwandlung Metabolin → Antibolin durch Milchsäure bewirkt wird, und es mag dahingestellt bleiben, ob andre Säuren das auch tun. Denn natürlich habe ich mein Hauptaugenmerk gerade auf die Bedingungen gelenkt, welche die entgegengesetzte Umlagerung herbeiführen oder begünstigen. So wurde eine große Reihe organischer Stoffe in dieser Hinsicht geprüft, saure, alkalische und neutrale. Aber immer vergeblich, bis ich schließlich durch folgende Überlegung zu einem sehr wirksamen Körper gelangte. Unter den zahlreichen für die therapeutische Anwendung bei Diabetes zur Verminderung der Glukosurie empfohlenen Arzneimitteln befindet sich nur eines, dessen Wirksamkeit unbestritten ist, nämlich das Opium. Es schien mir denkbar, daß darin eine Substanz enthalten sei, die Antibolin in Metabolin verwandeln könnte. So wurde in der Mekonsäure<sup>1)</sup> ein in

<sup>1)</sup> Bezüglich des Verhaltens der Mekonsäure im Organismus gibt Tuschnoff-Philipoff, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 51, S. 183 an, daß sie in Hunden und Kaninchen zum größten Teil zerstört wird. Dagegen erklärt Autenrieth, Auffindung der Gifte, 1903, S. 96, daß man beim Menschen nach Opiumvergiftung Mekonsäure im Harn nachweisen kann.

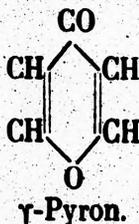
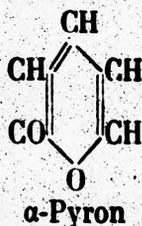
dieser Hinsicht besonders stark wirkender Stoff aufgefunden. Mekonsäure in wässriger Lösung zu einer Antibolinlösung gebracht, bringt sogleich einen Niederschlag von Metabolin hervor, der abfiltriert und ausgewaschen sich als vollkommen unlöslich selbst in kochendem Wasser erweist, durch Milchsäure aber mit Leichtigkeit wieder in Lösung gebracht werden kann. Die Mekonsäure steht, was die Intensität ihrer Wirkung betrifft, mit den stärksten Sulfosäuren in einer Reihe. Die Mekonsäure hat die Konstitution:



Sie ist eine Oxy- $\gamma$ -pyron- $\alpha$ -dicarbonsäure. Es war kaum daran zu zweifeln, daß ihre Wirksamkeit dem  $\gamma$ -Pyronring zuzuschreiben sei. Auch ein anderes leicht zugängliches Derivat dieses Ringes erwies sich als befähigt, die Umwandlung Antibolin  $\rightarrow$  Metabolin herbeizuführen. Nämlich die Chelidonsäure, die zuerst im Schöllkraut, *Chelidonium majus*, und dann auch im Wurzelstock von *Veratrum album* gefunden worden ist. Sie ist eine  $\gamma$ -Pyron- $\alpha$ -dicarbonsäure:



Nun mußte selbstverständlich gefragt werden, ob nicht auch der  $\alpha$ -Pyronring die gleiche Wirkung besäße als der  $\gamma$ -Pyronring.



Als Derivat des  $\alpha$ -Pyrons stand mir das Paracotoin zur Verfügung, eine Substanz, die in der Cotorinde enthalten ist und die Konstitution hat:



dem Malz ist ein als Maltol bezeichneter Stoff dargestellt worden, dem Kiliani und Bazlen<sup>1)</sup> die Konstitution eines Methyloxyprons zugeschrieben haben.

Ich komme nun zu den Gärversuchen. Sie wurden meistens wie früher beschrieben angestellt. Eine Traubenzuckerlösung von bestimmtem Gehalt wurde mit einer abgewogenen Quantität von Hefe zusammengerührt, darauf durch ein Tuch gepreßt, die Lösung umgeschüttelt und in zwei gleichgroße Eudiometerröhren gefüllt. Die eine enthielt das zu prüfende Metabolin- oder Antibolinpräparat. Eventuelle Zusätze wurden der Gesamtmenge der Gärmischung, ehe sie in die beiden Eudiometerröhren verteilt wurde, hinzugefügt. Beide Röhren standen nebeneinander, jede in einem besonderen Schälchen mit Wasser. Die Fehler, die dieser einfache Verschuß mit Wasser bietet, liegen auf der Hand. Aus derjenigen Röhre, in welcher die Gärung rascher verläuft, muß auch rascher die Gärmischung unten herausgedrängt werden. Schon aus diesem Grunde muß in ihr eine relative Abnahme der Kohlensäureentwicklung stattfinden. Noch mehr muß dies zum Ausdruck kommen bei gleichzeitiger Agglutination, wo gerade im unteren Teile der Röhre sich eine größere Menge der Hefe vorfindet. Wenn aber trotz dieser Fehlerquellen in der Metabolinröhre eine deutliche Vermehrung der Kohlensäure im Vergleich zur Kontrollröhre zu beobachten ist, so hat sich die gärungsbefördernde Wirkung des Metabolins um so schlagender dokumentiert. Aber die Wirkung des Metabolins ist, wenn nicht allein, so doch hauptsächlich durch Umwandlung in Antibolin in rascher Abnahme begriffen, auch unabhängig von jenen beiden Fehlerquellen. Um dies überzeugend darzutun, wurden auch Versuche mit Quecksilberschluß angestellt. Auch die Antibolinwirkung nimmt ab, wenn auch nicht so rasch wie die des Metabolins und auch nicht so regelmäßig. Also auch für sie müssen während der Gärung Kräfte in Wirksamkeit treten, die ihr entgegenarbeiten. Nach diesen kurzen Vorbemerkungen mögen die folgenden Beispiele für sich sprechen.

<sup>1)</sup> Kiliani und Bazlen, Ber. d. d. chem. Gesellschaft, Bd. 27 (1894), S. 3115.

## I. Antibolin.

## Versuch Nr. 1.

3 g Traubenzucker, 130 ccm Wasser, 6 g Hefe, 0,01 g Antibolin  
in neutraler Lösung. Temp. = 35° C.

Zeit	Röhre mit Antibolin	Kontrollröhre
10 Uhr 55 Minuten . .	Beginn des Versuches	
	keine Agglutination	
11 » 18 » . .	0,8	1,6
11 » 23 » . .	1,8	3,8
11 » 26 » . .	3,0	6,5
11 » 30 » . .	4,2	9,5
11 » 33 » . .	6,0	12,5
11 » 39 » . .	9,0	18,5
11 » 49 » . .	14,0	33,0
11 » 58 » . .	16,0	37,5

## Versuch Nr. 2.

3 g Traubenzucker, 130 ccm Wasser, 6 g Hefe, 0,01 g Antibolin  
in neutraler Lösung. Temp. 36° C.

Zeit	Röhre mit Antibolin	Kontrollröhre
10 Uhr 50 Minuten . .	Beginn des Versuches	
	keine Agglutination	
11 » 18 » . .	—	0,5
11 » 26 » . .	0,8	1,4
11 » 29 » . .	1,0	1,9
11 » 30 » . .	1,6	2,4
11 » 31 » . .	1,8	3,0
11 » 32 » . .	2,5	4,2
11 » 33 » . .	3,9	6,1
11 » 35 » . .	5,0	8,5
11 » 38 » . .	6,3	10,5
11 » 39 » . .	7,0	12,4
11 » 40 » . .	7,3	13,2
11 » 41 » . .	8,0	14,9
11 » 47 » . .	9,0	20,0
11 » 50 » . .	10,0	23,0
11 » 53 » . .	11,2	25,0

## Versuch Nr. 3.

3 g Traubenzucker, 130 ccm Wasser, 6 g Hefe, 5 ccm Milchsäure (offic.),  
0,01 g Antibolin (nicht neutralisiert). Temp. 40° C.

Zeit	Röhre mit Antibolin	Kontrollröhre
11 Uhr 20 Minuten . .	Beginn des Versuches	
	keine Agglutination	
11 » 36 » . . .	0	0,5
11 » 39 » . . .	0	1,0
11 » 40 » . . .	0	1,5
11 » 42 » . . .	0	2,0
11 » 46 » . . .	0,25	3,0
11 » 49 » . . .	0,3	4,0
11 » 50 » . . .	0,5	6,0
11 » 52 » . . .	0,7	7,0
11 » 55 » . . .	1,0	9,0
11 » 57 » . . .	1,5	10,0
11 » 58 » . . .	2,5	13,0
12 » — » . . .	3,0	16,0
12 » 12 » . . .	5,5	19,5

## Versuch Nr. 4.

3 g Traubenzucker, 130 ccm Wasser, 6 g Hefe, 1,5 ccm einer 10%igen  
Natronlauge, 0,015 g Antibolin in neutraler Lösung. Temp. 37° C.

Zeit	Röhre mit Antibolin	Kontrollröhre
10 Uhr 25 Minuten . .	—	
	keine Agglutination.	
11 » 15 » . . .	0	Beginn
11 » 24 » . . .	0	1,0
11 » 26 » . . .	0	2,0
11 » 28 » . . .	0	3,5
11 » 31 » . . .	0	4,5
11 » 34 » . . .	0	7,0
11 » 37 » . . .	0	10,0
11 » 39 » . . .	0	15,0
11 » 44 » . . .	0	21,5
11 » 50 » . . .	Beginn	28,5
11 » 57 » . . .	»	33,5
12 » 3 » . . .	1,0	38,5
12 » 7 » . . .	1,5	40,0
12 » 11 » . . .	2,0	42,0
12 » 20 » . . .	3,0	46,0

Versuch Nr. 5.

0,3 g Traubenzucker, 12 ccm Wasser, 0,6 g Hefe. Davon in jede Röhre 5 ccm, dann mit Quecksilber aufgefüllt.

0,003 g Antibolin in neutraler Lösung. Temp. 28° C.

Zeit	Röhre mit Antibolin	Kontrollröhre
10 Uhr 30 Minuten .	Beginn des Versuches	
	keine Agglutination	
11 > — > . .	0,2	1,0
11 > 10 > . .	0,4	2,5
11 > 15 > . .	0,5	3,0
11 > 22 > . .	0,7	4,2
11 > 31 > . .	1,6	9,0
11 > 43 > . .	2,5	11,5
11 > 57 > . .	3,0	15,0
12 > 5 > . .	3,4	16,0

II. Metabolin.

Versuch Nr. 6.

3 g Traubenzucker, 130 ccm Wasser, 6 g Hefe, 0,01 g Metabolin in neutraler Lösung. Temp. 35° C.

Zeit	Röhre mit Metabolin	Kontrollröhre
9 Uhr 54 Minuten . .	Beginn des Versuches	
	sofort starke Agglutination	
10 > 20 > . .	0,5	—
10 > 25 > . .	1,0	—
10 > 29 > . .	2,0	0,4
10 > 32 > . .	3,0	0,6
10 > 35 > . .	4,0	1,25
10 > 39 > . .	5,0	2,5

## Versuch Nr. 7.

3 g Traubenzucker, 130 ccm Wasser, 6 g Hefe, 0,01 g Metabolin  
in neutraler Lösung. Temp. 35° C.

Zeit	Röhre mit Metabolin	Kontrollröhre
9 Uhr 50 Minuten . .	Beginn des Versuches	
	starke Agglutination	
10 . 3 . . . .	0,5	—
10 . 8 . . . .	1,0	Kuppe
10 . 11 . . . .	1,5	0,4
10 . 13 . . . .	2,0	0,5
10 . 15 . . . .	2,5	0,75
10 . 18 . . . .	3,0	1,0
10 . 24 . . . .	4,0	2,0

## Versuch Nr. 8.

3 g Traubenzucker, 130 ccm Wasser, 6 g Hefe, 0,005 g Metabolin  
in neutraler Lösung. Temp. 35° C.

Zeit	Röhre mit Metabolin	Kontrollröhre
9 Uhr 55 Minuten . .	Beginn des Versuches	
	Agglutination	
10 . 20 . . . .	0,8	0,4
10 . 21 . . . .	1,0	0,5
10 . 23 . . . .	1,5	0,7
10 . 24 . . . .	2,0	1,0
10 . 27 . . . .	4,0	2,0
10 . 29 . . . .	5,0	3,0
10 . 30 . . . .	7,0	5,0

## Versuch Nr. 9.

3 g Traubenzucker, 130 ccm Wasser, 6 g Hefe, 0,01 g Metabolin  
in neutraler Lösung. Temp. 35°.

Zeit	Röhre mit Metabolin	Kontrollröhre
4 Uhr 55 Minuten . .	Beginn des Versuches	
	starke Agglutination	—
5 „ 24 „ . .	0,5	—
5 „ 30 „ . .	1,0	0,2
5 „ 33 „ . .	1,5	0,5
5 „ 37 „ . .	2,5	1,0
5 „ 45 „ . .	5,0	3,0
5 „ 53 „ . .	6,5	5,0
	7,0	6,0

## Versuch Nr. 10.

0,3 g Traubenzucker, 12 ccm Wasser, 0,6 g Hefe. In jeder Röhre 5 ccm.  
Dann mit Quecksilber aufgefüllt. 0,003 g Metabolin in neutraler Lösung.  
Temp. 26° C.

Zeit	Röhre mit Metabolin	Kontrollröhre
10 Uhr 15 Minuten . .	Beginn des Versuches	
	starke Agglutination	—
10 „ 43 „ . .	0,5	—
10 „ 45 „ . .	1,5	0,3
10 „ 47 „ . .	2,0	0,3
10 „ 49 „ . .	2,5	0,4
10 „ 51 „ . .	4,5	0,75
10 „ 55 „ . .	6,0	1,5
11 „ — „ . .	7,5	2,0
11 „ 5 „ . .	10,0	5,0
11 „ 15 „ . .	11,0	6,0
11 „ 21 „ . .	13,0	8,5
11 „ 41 „ . .	18,0	14,0
12 „ — „ . .	21,0	19,0

In der vor Jahren erschienenen Abhandlung wurden auch Versuche mit Zymin beschrieben, um darzutun, daß die beiden Pankreaskatalysatoren nicht etwa nur auf die lebende Hefe, sondern auf das Enzym der Alkoholgärung einwirken. Heute bedarf es eines besondern Beweises in dieser Hinsicht nicht mehr, da die eigentümliche Beziehung von Metabolin und Antibolin zueinander eine andere Auffassung ihres Einflusses auf die Gärung gar nicht zuläßt. Gleichwohl sollen hier zwei Versuche mit Antibolin und Zymin mitgeteilt werden. Besonders auffallende Wirkungen des Metabolins bei Versuchen mit Zymin kann man kaum erwarten, da bei der langsam verlaufenden Gärung die Gelegenheit zur Umwandlung in Antibolin reichlich gegeben ist. Allerdings sind in meiner früheren Publikation<sup>1)</sup> Zyminversuche angeführt, in denen eine Vermehrung der Kohlen-säureentwicklung durch zugesetzten Pankreasstoff bewirkt war. Ich hatte damals, gestützt auf Angaben in der Literatur, daß dies nicht nötig sei, auf den Zusatz eines Antiseptikums verzichtet, bin aber später zu der Überzeugung gekommen, daß die Abwesenheit eines solchen zwar bei kurz dauernden Versuchen und bei niedriger Temperatur nichts verschlägt, bei länger sich hinziehender Beobachtung und bei höherer Temperatur aber zu recht verschiedenen Ergebnissen zweier vollkommen gleicher Parallelproben führen kann. Da indessen bei allen drei früheren Zyminversuchen die vermehrte Kohlen-säure in der mit Pankreasstoff versetzten Zuckerlösung zu beobachten war, ist es immerhin möglich, daß in dem einen oder andern dieser Versuche eine entsprechende Wirkung des Pankreaskatalysators zur Geltung gekommen ist.

### Versuche mit Zymin und Antibolin.

#### Versuch Nr. 11.

Für jede Röhre: 1 g Zymin (Schroder, München), 15 ccm einer Lösung von 3 g Traubenzucker in 40 ccm Wasser, 0,2 ccm Toluol. In einer Röhre 0,005 ccm Antibolin in neutraler Lösung. Der Rest der Röhre mit Quecksilber gefüllt. Temp. 20° C.

<sup>1)</sup> l. c., S. 205.

	Röhre mit Antibolin	Kontrollröhre
1. Tag. 10 Uhr 30 Minuten	Beginn des Versuches	
4 „ 20 „	0,9	1,5
2. Tag. 9 „ 45 „	3,2	7,0
12 „ — „	3,5	8,0

Versuch Nr. 12.

Ebensolche Anordnung wie vorher. Aber 0,003 ccm Antibolin in neutraler Lösung. Temp. 23° C.

	Röhre mit Antibolin	Kontrollröhre
1. Tag. 9 Uhr 50 Minuten	Beginn	
5 „ 10 „	1,0	1,8
2. Tag. 9 „ 20 „	5,5	8,2
12 „ — „	6,2	9,5

Das Metabolin, welches die Gärung beschleunigt, ist nun ferner imstande, bei intravenöser wie subcutaner Applikation die Glukosurie diabetischer Hunde herabzudrücken. Die diesbezüglichen, von Herrn Prof. Mohr und mir angestellten Versuche werden in der folgenden Abhandlung beschrieben.

Das Metabolin ist im Pankreas gesucht und gefunden worden in der Voraussetzung, daß gerade dieses Organ einen Stoff mit einer Wirkung auf den intermediären Zuckerstoffwechsel enthalten muß. Wider alles Erwarten sind aber zwei Stoffe von entgegengesetzter Wirkung und sehr merkwürdiger Beziehung zueinander aufgefunden worden. Daß nun diese beiden Katalysatoren spezifische Produkte des Pankreas seien, wird von vornherein kaum jemand bezweifeln wollen. Da sie aber, denn das ist die Vorbedingung für ihre physiologische Funktion, auf irgend einem Wege anderen Organen zugeführt werden müssen, sollten auch diese gewisse Mengen davon enthalten. Namentlich schien mir das von Muskeln und Leber erwartet werden zu dürfen. Entsprechende Prüfungen hatten kein positives Ergebnis. Freilich sind sie weder mit so großem Aus-

gangsmaterial wie bei der Verarbeitung von Pankreas noch in so vielen Einzelfällen angestellt worden. Ferner liegen sie weit zurück, lange vor der Auffindung der Chlorzinkmethode. Sie sollen unter Anwendung dieser letzteren wiederholt werden.

Der Beweis, daß Metabolin und Antibolin sich im Organismus verbreiten, konnte durch ihre Darstellung aus Menschenharn geliefert werden. Man muß mindestens 10 Liter davon in Arbeit nehmen, woraus man, nach meinen bisherigen Erfahrungen, durchschnittlich etwa 1,5 dg erhält. Die Darstellung ist folgende:

Zehn Liter eines normalen Harnes werden bei essigsaurer Reaktion erst auf freiem Feuer, dann auf dem Wasserbade eingedampft. Den sirupösen Rückstand bringt man in 1 Liter Alkohol, erwärmt unter Umrühren einige Zeit und filtriert nach dem Abkühlen. Den Filtrerrückstand verrührt man mit ganz wenig verdünnter Salzsäure, filtriert und wäscht mit Wasser nach. Jetzt wird er in 5 ccm konzentrierter Milchsäure (offic.) gebracht, etwas erwärmt. Dann mit dem fünffachen Volumen Wasser verdünnt, zum Sieden erhitzt und heiß filtriert. Nach dem Einengen dieses Filtrats werden 20 ccm einer 10%igen Schwefelsäure und Natriumsulfat bis zur Sättigung hinzugefügt. Nach einiger Zeit Stehenbleibens wird der Niederschlag abfiltriert und ausgewaschen. Nun wird er zur Entfernung noch anhaftender Harnsäure mit Ammoniak ausgekocht und aus der filtrierten ammoniakalischen Lösung das Metabolin mit Schwefelsäure ausgeschieden. Das abfiltrierte, ausgewaschene und getrocknete Harnmetabolin stellt einen ebenso dunkelbraunen Körper dar als das Pankreasmetabolin. Bezüglich ihrer qualitativen Reaktionen haben bisher Unterschiede zwischen diesen beiden Stoffen nicht aufgefunden werden können. Die dunkle Farbe lenkte den Gedanken auf Huminsubstanzen, die Udránszki<sup>1)</sup> aus Harn dargestellt hat.

Von diesen unterscheidet sich das Harnmetabolin durch vollkommene Unlöslichkeit in siedendem Amylalkohol und Chloroform, sowie durch die Unfällbarkeit mittels Bleizucker.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 11 (1887). S. 537 u. Bd. 12 (1888), S. 32.

Schließlich wurden Harnmetabolin und das daraus durch Umlagerung hervorgehende Harnantibolin in ihrer Wirkung auf die alkoholische Gärung geprüft.

Versuch Nr. 13.

3 g Traubenzucker, 130 ccm Wasser, 6 g Hefe, 0,01 g Harnantibolin in neutraler Lösung. Temp. 39° C.

Zeit	Röhre mit Harnantibolin	Kontrollröhre
10 Uhr 15 Minuten . . .	Beginn des Versuches	
10 > 26 > . . .	0,5	1,0
10 > 28 > . . .	1,0	2,5
10 > 33 > . . .	4,0	8,0
10 > 45 > . . .	7,5	20,0
10 > 56 > . . .	10,5	31,0
12 > — > . . .	12,0	34,0

Versuch Nr. 14.

3 g Traubenzucker, 130 ccm Wasser, 6 g Hefe, 0,01 g Harnmetabolin in neutraler Lösung. Temp. 36°.

Zeit	Röhre mit Harnmetabolin	Kontrollröhre
9 Uhr 54 Minuten . . .	Beginn des Versuches	
	starke Agglutination	
10 > 11 > . . .	2,5	0,0
10 > 17 > . . .	3,2	1,5
10 > 25 > . . .	6,0	2,5
10 > 38 > . . .	8,0	6,5
10 > 41 > . . .	10,0	8,3

Es gibt also katalytisch wirkende Substanzen, die durch molekulare Umlagerung ineinander übergehen und ein und denselben Vorgang in entgegengesetzter Weise beeinflussen. Dies kann, wie bereits gesagt, kaum anders geschehen, als indem diese beiden Stoffe direkt auf die Enzyme, welche jene Spaltung veranlassen, einwirken, und zwar, was am nächsten liegt — mag man nun das früher gewählte Bild vom Propeller

gelten lassen oder nicht —, eine molekulare Verbindung mit ihnen eingehen. Ferner ist es selbstverständlich, daß sie auf Prozesse, die durch andere katalytisch wirkende Stoffe als die Enzyme also z. B. Säure, Alkali oder kolloidales Metall beeinflusst werden, keine Wirkung ausüben können. Denn es ist klar, daß sie nur auf asymmetrisch gebaute Katalysatoren ihre gegensätzliche Konfiguration zur Geltung bringen werden.

Welche Bedeutung die neu gewonnene Tatsache für die katalytischen Phänomene im allgemeinen gewinnen mag, soll hier nicht erörtert werden. Ich beschränke mich darauf, ihre Wichtigkeit für die tierische Ökonomie zu betrachten.

Welche außerordentliche Differenzierung in qualitativer Hinsicht der Organismus durch Enzymproduktion zu erreichen vermag, darüber sind wir in neuerer Zeit durch die Arbeiten Abderhaldens<sup>1)</sup> in überraschender Weise aufgeklärt worden. Sehen wir uns aber nach der Möglichkeit um, die Wirkung der einzelnen Enzyme quantitativ abzustufen, so finden wir diese innerhalb enger Grenzen eingeschränkt. Die Energie der Enzymwirkung hängt vorzüglich von zwei Momenten ab, der Menge des Enzyms und der Temperatur. Bedenkt man aber, daß beispielsweise das Pepsin nach der bekannten Schützschenschen Regel um das vierfache zunehmen muß, um nur die doppelte

Verhältnisse sind im Vergleich

in der quantitativen Produktion als eine recht schwerfällige Regulation der Enzymwirkung einleuchten. Und die Temperatur ist bei warmblütigen Tieren, selbst wenn wir die pathologischen Zustände noch hinzunehmen, so geringen Schwankungen unterworfen, daß sie für eine erhebliche Änderung der Enzymwirkungen gar nicht in Frage kommen kann. Zwar verfügt der Organismus noch über andere Mittel, um die Energie der Enzymwirkung zu modifizieren, z. B. Wasserstoff- und Hydroxylionen u. a. Aber man wird diesen wenigstens für die Erscheinungen des intermediären Stoffwechsels eine erhebliche Bedeutung nicht zuschreiben wollen.

<sup>1)</sup> Abderhalden, Abwehrfermente des tierischen Organismus usw. Berlin 1913.

Wie anders die Rolle von Stoffen, wie Metabolin und Antibolin! Indem ihre reziproke Umwandlung im Verlaufe der von ihnen beeinflussten Zersetzungen stattfinden muß, kann die Enzymwirkung in einer Weise abgestuft werden, wie es anders kaum denkbar ist, denn die Größe der beschleunigenden oder verzögernden Wirkung eines Gemisches von Metabolin und Antibolin, dessen Gleichgewicht je nach den Umständen sich nach der einen oder andern Richtung verschiebt, bietet nicht allein mit der Genauigkeit einer Mikrometerschraube eine exakte Einstellung auf die kleinsten erforderlichen Größen, sondern auch eine rasche und genaue Anpassung an wechselnde Anforderungen.

Die früher von mir entwickelte Auffassung, daß vom Pankreas ein Stoff in den Kreislauf zur Regulierung des intermediären Zuckerstoffwechsels geworfen wurde, wird durch Auffindung des Metabolins und Antibolins und ihrer merkwürdigen Beziehung zu einander bestätigt und erweitert. Beide wirken auf die Alkoholgärung, und ich habe sonst keine Zuckerzer-  
setzung gefunden, in die sie fördernd oder hemmend eingriffen. Will man darin einen Beweis erblicken, daß in der Tat, wie Stoklasa auf Grund seiner Versuche behauptet hat, die Alko-  
holgärung die Hauptform des intermediären ~~Zuckerstoffwechsels~~

~~darstellt. Diese Frage mag hier~~  
~~unbesprochen bleiben, denn es ist wünschenswert, ihre Ent-~~  
scheidung durch weitere direkte Nachweise zymaseähnlicher  
Stoffe in tierischen Organen herbeizuführen. Doch kann ich  
freilich nicht leugnen, daß in meinen Augen Stoklasas An-  
gaben an Glaubwürdigkeit gewonnen haben, die durch den  
Umstand, daß einige Nachprüfer sie nicht haben bestätigen  
können, nicht beeinträchtigt wird. Denn erstens besitzen Ver-  
suche mit positivem Ergebnis eine größere Beweiskraft als  
solche mit negativem. Weiter aber ist die geforderte Fest-  
stellung mit besonderen Schwierigkeiten verbunden. Wie fol-  
gende Betrachtung lehrt, deren Berücksichtigung bei der Nach-  
prüfung der Stoklasaschen Angaben vielleicht von Nutzen  
sein wird.

Wenn wir selbst bei Enzymen ein und desselben tierischen

Organismus, z. B. bei den proteolytischen und diastatischen, verschiedene Typen antreffen, ist es doch höchst wahrscheinlich, daß gang allgemein die tierischen Zymasen von den pflanzlichen verschieden sein werden. Ja sie müssen sich durchaus voneinander unterscheiden, da sie unter andern Bedingungen arbeiten, diesen also angepaßt sind. Die Hefezymasen wie überhaupt die pflanzlichen Zymasen wirken in einem sauer reagierenden Medium, die tierischen in nicht sauren oder alkalischen Substraten. Beim Absterben der Organe tritt aber saure Reaktion auf, die sogleich anwesende Zymasen schädigen wird. Ferner sind die Hefezymasen gegen die verderbliche Wirkung des Alkohols zwar nicht vollkommen, aber doch in relativ hohem Grade immun. Von den tierischen kann man nur das Gegenteil erwarten. Da der tierische Organismus selbst große Quantitäten Alkohols, die von außen in ihn eindringen, schnell zerstört oder ausscheidet, ist es nicht zu verwundern, daß die eventuell bei der intermediären Zuckerzersetzung entstehenden Quantitäten rasch von Ort und Stelle verschwinden, den Zymasen also keine Gelegenheit gegeben wird, sich an die Giftigkeit des Alkohols zu gewöhnen. Im Experiment bin ich aber nicht imstande, den jedesmal gebildeten Alkohol sogleich wegzuschaffen.

Zugunsten der Stoklasaschen Auffassung muß ferner darauf hingewiesen werden, daß wiederholt in frischen tierischen Organen Alkohol nachgewiesen worden ist. Den älteren Angaben dieser Art mochte man wohl den Vorwurf machen, daß bei den Experimenten die Anwesenheit von Mikroorganismen nicht mit genügender Sorgfalt ausgeschlossen worden sei. Aber in neuerer Zeit ist von Landsberg<sup>1)</sup> mit aller erdenklichen Sorgfalt verfahren und in einer großen Reihe frischer tierischer Organe Alkohol nachgewiesen und zum Teil auch quantitativ bestimmt worden. Nur zieht dieser Autor den merkwürdigen Schluß, daß der in den tierischen Geweben gefundene Alkohol

<sup>1)</sup> Landsberg, Über den Alkoholgehalt tierischer Organe. Diese Zeitschrift, Bd. 41 (1904), S. 505. S. auch Reach, Über das Vorkommen von Äthylalkohol und Äthylester im Tierkörper. Biochem. Zeitschrift, Bd. 3, S. 326.

nicht dort gebildet, sondern aus dem Verdauungsschlauch dahin transportiert worden sei.

Aber ich wiederhole, es mag dahingestellt bleiben, ob im tierischen Organismus die Alkoholbildung die einzige oder wichtigste Form der intermediären Zuckerzersetzung darstellt oder nicht — so wird gleichwohl daran nichts geändert, daß Metabolin und Antibolin auf die intermediäre Zuckerzersetzung einwirken. Daraus ergibt sich nun folgende Theorie des Diabetes.

Der Zucker wird im Organismus der Hauptsache nach ohne vorhergehende Spaltung nicht verbrannt. Diese intermediäre Zersetzung wird je nach Erfordernis beschleunigt oder verzögert durch zwei Stoffe — Metabolin und Antibolin —, die vom Pankreas durch innere Sekretion in Umlauf gesetzt werden. Wird das Metabolin nicht in genügender Menge gebildet oder fällt es wie bei Totalexstirpation des Pankreas vollkommen aus und sinkt damit die intermediäre Zersetzung des Zuckers unter ein gewisses Niveau, so wird dieser dementsprechend unverändert ausgeschieden. Aber die wunderbare Beziehung von Metabolin und Antibolin zueinander läßt ferner eine große Mannigfaltigkeit in der Entstehung der Glykosurie zu. Auch bei völlig gesundem Pankreas und bei durchaus normaler Produktion von Metabolin können in irgend einem andern Organ Störungen vorhanden sein, durch welche vorübergehend oder dauernd eine gesteigerte Umlagerung von Metabolin in Antibolin stattfindet. Auch dadurch muß der regelrechte Verlauf der intermediären Zuckerzersetzung verschoben und eine Glykosurie die Folge davon sein.

Mit der Auffindung des Metabolins und Antibolins ist ein bisher völlig unbekannter Typus regulativer Einrichtungen gefunden worden. Aber in der Natur kommen singuläre Erscheinungen nicht vor. Wo immer man einer solchen begegnet ist, hat sie sich in der Folge als der erste Fall einer Reihe ähnlicher Erscheinungen herausgestellt. Und so bin ich der Meinung, daß Stoffe, die durch molekulare Umlagerung ineinander übergehen und entgegengesetzte Wirkungen ausüben, auch sonst noch im Organismus aufzufinden sein möchten.

Von den Phänomenen der inneren Sekretion dürften die

**Funktionen der Thyreoidea und Parathyreidea am ehesten die Vermutung erwecken, daß sie auf die Gegensätzlichkeit zweier Substanzen zurückzuführen seien, die durch molekulare Umlagerung ineinander verwandelt werden. Man werfe einen Blick auf folgende Gegenüberstellung der Symptome der Kachexia thyreopriva und des Morbus Basedowii.<sup>1)</sup>**

<b>Kachexia thyreopriva.</b>	<b>Morbus Basedowii.</b>
<p>Fehlen oder Atrophie der Thyreoidea.</p> <p>Langsamer, kleiner, regelmäßiger Puls.</p> <p>Fehlen jeglicher Blutwallung.</p> <p>Verlangsamter Stoffwechsel.</p> <p>Dicke, undurchsichtige, gefaltete, trockene bis schuppige Haut.</p> <p>Schläfrigkeit und Schlafsucht.</p> <p>Zurückbleiben des Knochenwachstums.</p> <p>Verlangsamte, schwere Atmung.</p> <p>Zunahme des Körpergewichts.</p>	<p>Schwellung der Thyreoidea.</p> <p>Frequenter, oft gespannter, schneller, hier und da unregelmäßiger Puls.</p> <p>Überaus erregbares Gefäßnervensystem.</p> <p>Gesteigerter Stoffwechsel.</p> <p>Dünne, durchscheinende, fein injizierte, feuchte Haut.</p> <p>Schlaflosigkeit und aufgeregter Schlaf.</p> <p>Schlanker Skelettbau.</p> <p>Oberflächliche Atmung mit mangelhafter inspiratorischer Ausdehnung des Thorax.</p> <p>Abnahme des Körpergewichts.</p>

In der Voraussetzung, daß von der Thyreoidea nur ein spezifisch wirksamer Stoff (oder doch nur eine Art in derselben Richtung wirksamer Stoffe) produziert wird, hat man zur Erklärung der in obiger Tabelle eingereichten Gegensätze für die eine Serie von Erscheinungen einen Überschuß (Hyperthyreoidismus), für die andere einen Mangel (Athyreodismus oder Hypothyreodismus) an jenem Agens zugeschrieben. Ich habe diese Auffassung immer als unbefriedigend empfunden: ein bloßes Mehr oder Weniger ein und derselben Ursache sollte eine solche Mannigfaltigkeit zuwege bringen! Nimmt man aber an, daß von der Schilddrüse zwei Stoffe gebildet werden, die entgegengesetzte Wirkung besitzen und durch molekulare Umlagerung ineinander verwandelt werden können, so läßt sich bei einer Abweichung von der Norm und bei

<sup>1)</sup> Nach Biedel. Innere Sekretion (1910), S. 92.

der Verquickung primärer und sekundärer Störungen eine große Mannigfaltigkeit in den verschiedenen Symptomkomplexen voraussehen. Diese Hypothese muß sich mindestens heuristisch als fruchtbar erweisen. Sie schwebt auch nicht in der Luft, da sie aus einer bewiesenen Tatsache, dem Verhalten der beiden Pankreaskatalysaloren, per analogiam erschlossen worden ist.

Die neugewonnene Einsicht in den Mechanismus der intermediären Zuckerzersetzung versprach eine wichtige Grundlage für eine kausale Therapie des Diabetes zu liefern. Wie die bereits erwähnten, in der folgenden Abhandlung beschriebenen Tierversuche beweisen, ist man, wie nicht anders zu erwarten, imstande, durch intravenöse und subcutane Applikation von Metabolin die nach Pankreasexstirpation eingetretene Glykosurie in erheblichem Maße herabzusetzen. Bei der großen Gefahr jedoch, welche für den Diabetiker jede Wunde wegen ihrer geringen Tendenz zur Heilung besitzt, wird man eine derartige, noch dazu längere Zeit zu wiederholende Applikation vermeiden. Für eine im großen Umfang anwendbare therapeutische Benutzung ist es nicht nur wünschenswert, sondern geradezu notwendig, das Metabolin durch den Magendarmkanal einzuführen. Hier macht aber die stets vorhandene Milchsäure durch mehr oder weniger vollständige Umwandlung des Metabolins in Antibolin jede therapeutische Wirkung illusorisch. Es mußten also Bedingungen aufgefunden werden, welche diese Umlagerung des Metabolins verhindern oder einschränken.

Bevor ich zur Besprechung der zu diesem Zwecke unternommenen Schritte übergehe, schicke ich voraus, daß die sich daran anschließenden von Herrn Professor Mohr ausgeführten therapeutischen Versuche befriedigende Ergebnisse nicht gehabt haben.

Das Nächstliegende war, Metabolin in alkalischer Lösung gleichzeitig mit Stoffen zu verabreichen, die die entgegengesetzte Umlagerung von Antibolin in Metabolin bewirken. Derartige Stoffe sind oben angeführt worden. Sie sind in Rücksicht auf das therapeutische Problem gesucht und gefunden worden.

Praktische Anwendung bei Diabetikern fand das phenolsulfosaure Natron, ein schön krystallisierendes, leicht lösliches und billig zu beschaffendes Material. Das Ausbleiben des gewünschten Erfolges erklärt sich am einfachsten in folgender Weise. Die Umwandlung des Antibolins in Metabolin durch alle jene früher bezeichneten Substanzen kommt deutlich zum Ausdruck in saurer Lösung. Wie viel in einer neutralen oder alkalischen Lösung Antibolin in Metabolin und umgekehrt verwandelt ist, dafür gibt es kein Kriterium. Man muß annehmen, daß in einer solchen Lösung, die gleichzeitig Milchsäure und Sulfosäure enthält, ein von verschiedenen Umständen abhängiges Gleichgewicht zwischen Antibolin und Metabolin sich herstellen wird, wodurch die Wirkung des Metabolins ganz oder zum großen Teil paralytisch wird.

Ein zweiter gangbarer Weg schien die Darstellung von Verbindungen des Metabolins zu bieten, die durch Milchsäure nicht mehr gelöst, nicht mehr umgelagert werden. Eine solche Verbindung ist der Niederschlag, der auf Zusatz von Ichthylsulfosäure zu einer Antibolinlösung entsteht. Sie ist in Alkali löslich und in einer wasserlöslichen Alkaliverbindung therapeutisch angewendet worden. Auch die Niederschläge mit Ferro-(oder Ferri-)Cyankalium in Antibolinlösungen sind molekulare Verbindungen von Metabolin und Ferro-(Ferri-)Cyanwasserstoffsäure, die in Milchsäure unlöslich, in Alkali löslich sind. Eine Ferrocyanwasserstoffsäure-Metabolinverbindung wurde in alkalischer Lösung mittels Schlundsonde einem durch Pankreasexstirpation diabetisch gemachten Hunde verabreicht, ohne daß eine überzeugende Wirkung auf die Glykosurie eintrat.

Nach den erlebten Mißerfolgen blieb nur mehr eine Methode übrig. Es mußte daran gedacht werden, aus dem Metabolin Derivate herzustellen, die zwar die alkoholische Gärung noch zu beschleunigen vermögen, aber nicht mehr in einen entgegengesetzt wirkenden Stoff umgewandelt werden können. Die organische Chemie bietet genug Beispiele, welche beweisen, daß Stoffe, die durch molekulare Umlagerung in andere übergehen können, in gewissen Derivaten diese Fähigkeit entweder vollkommen verlieren, oder nur in abgeschwächtem

Maße behaupten. Es gelang mir nun in der Tat, eine Reihe von Metabolinderivaten darzustellen, welche die gesuchte Unveränderlichkeit besaßen. Allein an der Gärung geprüft, beschleunigten sie dieselbe nicht, sondern verzögerten sie. Solche Erfahrungen ließen bereits die Befürchtung auftauchen, daß die weniger labile Form meiner beiden Pankreaskatalysatoren die des Antibolins wäre.

Indessen sollte doch noch ein Weg, zu der gewünschten Gattung von Derivaten zu gelangen, aufgefunden werden. Übergießt man trockenes Metabolin oder Protein-Metabolin mit der fünffachen Menge Essigsäureanhydrid, erhitzt einige Zeit zum Sieden, verdünnt nach dem Stehen- und Abkühlenlassen mit dem mehrfachen Volum Wasser, dem etwas verdünnte Salzsäure zugesetzt ist, filtriert ab und behandelt wiederholt mit heißem Wasser, so erhält man ein Produkt, das im Gegensatz zu Metabolin in Alkalien unlöslich ist. In verdünnten Ätzalkalilauge ist es in der Kälte unlöslich. Mit 10%iger Sodalösung kann es gekocht werden, ohne daß sich eine Spur löst. Ebenso unlöslich ist es in verdünnten anorganischen und organischen Säuren, selbst beim Kochen. Mit konzentrierter Milchsäure zusammengebracht und erhitzt, wird kaum etwas davon gelöst. Wirft man nach dem Verdünnen mit Wasser und abermaligem Aufkochen das Gemisch auf ein Filter, so kann man sich überzeugen, daß in der durchlaufenden Flüssigkeit mit Ferrocyanalkalium kein Niederschlag mehr entsteht. Behandelt man aber das Acetylmolibdin mit starker Alkalilauge in der Wärme, am besten mit kochender alkoholischer Kalilauge, so erhält man nach Abscheiden durch Säure wieder Metabolin, das in Alkali löslich ist und in Antibolin verwandelt werden kann. Die Unlöslichkeit des Acetylmolibdins in Alkali bestätigt die oben geäußerte Meinung, daß die sauren Eigenschaften des Molibdins nicht von einer Carboxylgruppe abhängen können.

Dieses Acetylmolibdin ist ferner imstande, die alkoholische Gärung zu beschleunigen.

#### Versuch Nr. 15.

Da das Acetylmolibdin in Wasser unlöslich ist, wurde dem Gär-  
gemisch Seifenlösung zugesetzt, worin jenes löslich ist.

0,2 g Traubenzucker, 10 ccm Wasser, 0,4 g Hefe.

Je 5 ccm in ein Eudiometerrohr. In eins fein gepulvertes, nicht genau abgewogenes Acetylmetabolin. Der Rest der Röhren mit Quecksilber gefüllt. Temp. 20° C.

Zeit	Röhre mit Acetylmetabolin	Kontrollröhre
9 Uhr 45 Minuten . . . . .	Beginn	
10 > 25 > . . . . .	0,5	0,25
10 > 35 > . . . . .	1,0	0,5
10 > 40 > . . . . .	1,5	0,75
10 > 49 > . . . . .	2,0	1,5
10 > 55 > . . . . .	3,0	2,5
11 > 6 > . . . . .	6,0	5,5

Nun hatte man endlich das Ziel erreicht, ein Metabolinderivat in Händen zu haben, das durch molekulare Umlagerung nicht mehr verändert wird, aber trotzdem die Gärung beschleunigt. Freilich führen seine Unlöslichkeit und seine Verseifbarkeit neue Schwierigkeiten herbei. Ob man überhaupt erwarten konnte, daß eine solche Substanz im Darmkanal ohne vorhergehende Spaltung zur Resorption käme? Ich habe mich jedoch überzeugt, daß das Acetylmetabolin in zwei Arten von Stoffen, die sich auch im Darm regelmäßig vorfinden, löslich ist. Das sind Seifen und gallensaure Salze. Von der Wirkung der letzteren kann man sich am leichtesten beim taurocholsauren Natron überzeugen. Bringt man etwas Acetylmetabolin oder Acetylproteinmetabolin in eine neutrale Lösung von taurocholsaurem Natron, erhitzt und filtriert, so entsteht mit Essigsäure im Filtrat ein Niederschlag von Acetylmetabolin. Eine verdünnte wässrige Lösung von taurocholsaurem Natron wird durch Essigsäure nicht gefällt. In einer wässrigen Lösung von Taurocholsäure ist Acetylmetabolin nicht löslich. Für die therapeutischen Versuche wurde Acetylproteinmetabolin in capsulae geloduratae verabreicht erst allein, später mit gleichen Teilen fel tauri depuratum siccum. Es wurden keine konsequenten befriedigenden Ergebnisse erzielt. Vermutlich wird ein erheblicher Teil des Acetylmetabolins im Darm vor der Resorption gespalten.

Alle Versuche, die Metabolinwirkung vom Darmkanal aus gleichmäßig und sicher zur Geltung zu bringen, sind bisher mißlungen. Was mich aber keineswegs entmutigen und zur Einstellung meiner Bemühungen zwingen kann. Die Grundlage, auf der meine Arbeit zunächst fortgeführt wird, ist diese. Durch ein Metabolinderivat, das die Gärung verlangsamt und sich zur subcutanen Applikation eignet, sollen Tiere diabetisch gemacht und an diesen geprüft werden, ob und in welchem Grade andere Derivate die vorhandene Glukosurie beeinflussen. Alle Präparate, welche diese Glukosurie bei der Resorption vom Darm aus einschränken oder aufheben, müssen für die therapeutische Verwendung geeignet sein.

Bei den bisherigen Bestrebungen, welche das therapeutische Problem im Auge hatten, war nur auf die Wirkung des Metabolins Rücksicht genommen. Aber die wechselseitige Umlagerung von Metabolin und Antibolin läßt, wie bereits früher gesagt, noch eine andere Genese der Glykosurien zu, als die mangelhafte Produktion von Metabolin, nämlich eine Störung derjenigen Bedingungen, durch welche das für einen normalen Ablauf der Zuckerzersetzung notwendige Gleichgewicht zwischen Metabolin und Antibolin gewahrt wird. Für solche Fälle wäre es denkbar, daß durch Stoffe, wie sulfosaure Salze, Mekonsäure, Chelidonsäure, Paracotoin usw., soweit sie im Darm und im Kreislauf nicht rasch zerstört werden, die Zuckerausscheidung herabgesetzt wird. Vielerlei einander widersprechende Angaben über antidiabetisch wirkende Pflanzenextrakte könnten vielleicht auf diese Weise ihre Erklärung finden.

Die Auffindung einer neuen Fundamentaltatsache eröffnet nach allen Richtungen leichter gangbare Wege zu neuen Fragestellungen und weiteren Forschungen. Wenn ich nun die viele Arbeit überblicke, die ich jahrelang aufgewandt habe, um zu den bisherigen Resultaten zu gelangen, scheint mir die Bitte nicht unberechtigt, man möge mir bis auf weiteres die Bearbeitung des von mir erschlossenen Gebietes überlassen.