

185. Artturi I. Virtanen: Zur Kenntnis des Insulins.

[Aus d. Laborat. d. Butter-Exportgesellschaft Valio m. b. H., Helsinki, Finnland.]
(Eingegangen am 17. Februar 1925.)

In einer Reihe von Mitteilungen habe ich bewiesen, daß die bakterielle Milchsäure-Gärung, die von typischen Milchsäure-Bakterien hervorgerufen wird, in derselben Weise verläuft, wie die Milchsäure-Bildung im Muskel nach Embden und dessen Mitarbeitern. Mit Trockenpräparaten von Milchsäure-Bakterien, besonders von *Bacterium casei* ϵ , ist gezeigt worden, daß die Gärspaltung der Glykose durch eine Veresterung des Zuckers mit Phosphaten eingeleitet wird. Nach meiner Ansicht macht diese Veresterung die Spaltung überhaupt erst möglich, und zwar dadurch, daß bei der Verseifung des Esters — des „Zymosphats“ — das Hexosen-Molekül zunächst in Glycerinaldehyd bzw. Glycerinaldehyd und Dioxy-aceton gespalten wird, aus welchen dann die Milchsäure entsteht.

Für die Gärung ist die Anwesenheit eines Aktivators, der sog. Cozymase, notwendig. Ohne diesen Stoff ist sowohl die alkoholische Gärung als auch die Milchsäure-Bildung im Muskel und die Milchsäure-Gärung nicht möglich. Von Euler und Myrbäck²⁾, welche die Cozymase aus der Hefe weitgehend gereinigt haben, ist bewiesen worden, daß andere sog. Aktivatoren die Cozymase nicht ersetzen können³⁾. Dadurch ist die spezifische Natur der Cozymase bewiesen.

Die Cozymase scheint an der Veresterung des Zuckers⁴⁾ und dadurch am Abbau der Kohlenhydrate beteiligt zu sein. Von besonderem Interesse ist die Tatsache, daß die Cozymase aus Milchsäure-Bakterien und auch aus Muskeln die Cozymase der Hefe bei der alkoholischen Gärung ersetzen kann⁵⁾. Das macht die Annahme wahrscheinlich, daß dieselbe Cozymase bei verschiedenen Gärungen beteiligt ist.

Als ein neuer, im Tierkörper vorkommender Aktivator, der am Kohlenhydrat-Umsatz ebenfalls teilnimmt, ist das von Banting und Macleod entdeckte Insulin zu betrachten. Die eigentliche Wirkung dieses wichtigen Stoffes ist noch in Dunkel gehüllt, denn es ist noch ganz unklar, ob es beim Diabetiker die Zuckerbildung hemmt oder den Zuckerverbrauch fördert.

Vom biochemischen Standpunkt ist die Frage sehr wichtig, ob das Insulin als Cozymase wirksam ist oder nicht. Mit dieser Frage haben Euler und Myrbäck⁶⁾ sich erst ganz vor kurzem beschäftigt und dabei bewiesen, daß ein cozymase-freies Hefepräparat durch Insulin-Zusatz nicht aktiviert wird. Mit demselben Problem habe ich mich schon seit dem letzten Herbst beschäftigt. Die Fragestellung bei meiner Arbeit war: Kann das Insulin ein durch Waschen inaktiviertes Trockenpräparat von Milchsäure-Bakterien aktivieren? Wegen der schwierigen Herstellbarkeit aktiver Trockenpräparate von Milchsäure-Bakterien in großem Maßstabe⁷⁾ haben die Versuche aber erst jetzt zum

¹⁾ Virtanen, H. 138, 136 [1924]; H. 143, 71 [1925]; Soc. Scient. Fennic. Comm. Phys. Math. [1925] im Druck; s. auch H. 134, 300 [1924].

²⁾ H. 136, 107 [1924], 139, 281 [1924]. ³⁾ H. 133, 260 [1924].

⁴⁾ Euler und Myrbäck, H. 139, 15 [1924]; s. auch Virtanen, Soc. Scient. Fennic. Comm. Phys. Math. [1925] im Druck.

⁵⁾ Myrbäck und Euler, B. 57, 1073 [1924].

⁶⁾ Chemie d. Zelle u. Gewebe 12, 57 [1925].

⁷⁾ Virtanen, H. 134, 300 [1924], 143, 71 [1925].

Ziel geführt. Es ließ sich beweisen, daß das Insulin ein cozymase-freies Trockenpräparat von einem typischen Milchsäure-Bakterium, dem *Bacterium casei* ϵ , stark aktiviert und mithin als Cozymase wirksam ist.

Die Versuchsanordnung war dieselbe wie bei meinen früheren Versuchen mit Milchsäure-Bakterien⁸⁾. Die Herstellung des Trockenpräparates von *Bacterium casei* ϵ ist ebenfalls schon früher beschrieben worden. Bei allen Versuchen war die Versuchstemperatur 42°. Das angewandte Insulin war frisches englisches „Wellcome“-Insulin und enthielt 100 Einheiten pro 5 ccm.

Versuch 1: 20 ccm 0.54-n. Phosphatlösung von $p_H = 6.2$, 1 g Glykose, 4 g Trockenpräparat und 1 ccm Toluol.

Zeit in Stunden	Mg ₂ P ₂ O ₇ in 1 ccm g	Verminderung des Phosphats in %	Glykose in 1 ccm g	Verminderung der Glykose in %
0	0.0653	—	0.0463	—
15	0.0581	11.0	0.0304	34.4

Versuch 2: 20 ccm 0.54-n. Phosphatlösung von $p_H = 6.2$, 1 g Glykose, 4 g dreimal mit Wasser gewaschenes Trockenpräparat und 1 ccm Toluol.

Zeit in Stunden	Mg ₂ P ₂ O ₇ in 1 ccm g	Verminderung des Phosphats in %	Glykose in 1 ccm g	Verminderung der Glykose in %
0	0.0370	—	0.0271	—
15	0.0365	1.3	0.0267	1.5
25	0.0365	1.3	0.0266	1.8

Versuch 3: 20 ccm 0.54-n. Phosphatlösung von $p_H = 6.2$, 1 g Glykose, 4 g dreimal mit Wasser gewaschenes Trockenpräparat, 0.5 ccm Insulin und 1 ccm Toluol.

Zeit in Stunden	Mg ₂ P ₂ O ₇ in 1 ccm g	Verminderung des Phosphats in %	Glykose in 1 ccm g	Verminderung der Glykose in %
0	0.0408	—	0.0297	—
15	0.0362	11.3	0.0227	23.6
25	0.0352	13.7	0.0201	32.3

Versuch 1 zeigt, daß das angewandte Trockenpräparat stark aktiv ist, Versuch 2, daß das gewaschene Präparat praktisch vollständig inaktiv und mithin coenzym-frei ist, Versuch 3, daß der Insulin-Zusatz das cozymase-freie Präparat aktiviert hat. Sowohl die Bindung des Phosphats an Zucker als die Gärung des Zuckers ist durch Insulin stark beeinflusst worden.

Die folgenden Versuche, bei welchen das Trockenpräparat nur einmal gewaschen war und darum nur einen Teil seiner Cozymase verloren hatte, zeigen, daß der Insulin-Zusatz auch in diesem Falle den Zuckerabbau stark aktiviert.

Versuch 4: 10 ccm 0.54-n. Phosphatlösung von $p_H = 6.2$, 0.75 g Glykose, 3 g einmal mit Wasser gewaschenes Trockenpräparat und 0.6 ccm Toluol.

⁸⁾ Virtanen, H. 138, 138 [1924].

Zeit in Stunden	Mg ₂ P ₂ O ₇ in 1 ccm g	Verminderung des Phosphats in %	Glykose in 1 ccm g	Verminderung der Glykose in %
0	0.0204	—	0.0229	—
14	0.0178	12.7	0.0181	21.8
28	0.0170	16.7	0.0165	27.9

Versuch 5: 10 ccm 0.54-n. Phosphatlösung von pH 6.2, 0.75 g Glykose, 3 g einmal mit Wasser gewaschenes Trockenpräparat, 0.4 ccm Insulin und 0.6 ccm Toluol.

Zeit in Stunden	Mg ₂ P ₂ O ₇ in 1 ccm g	Verminderung des Phosphats in %	Glykose in 1 ccm g	Verminderung der Glykose in %
0	0.0199	—	0.0205	—
14	0.0160	19.6	0.0147	28.3
28	0.0160	19.6	0.0131	36.1

Durch Insulin-Zusatz ist die Milchsäure-Gärung in diesem Falle um 30 % gesteigert worden. Das Insulin vermag also den fehlenden Teil Cozymase zu ersetzen.

Auf Grund obiger Versuche darf man annehmen, daß das Insulin den Zuckerabbau im Organismus fördert, indem es die Zymophosphat-Bildung aktiviert. Möglich ist jedoch, daß das Insulin auch noch eine andere Komponente enthält; darum beschränke ich mich hier auf das Konstatieren der Tatsache, daß das Insulin bei der bakteriellen Milchsäure-Gärung wie die Cozymase wirksam ist.

Warum das Insulin die cozymase-freie Trockenhefe nicht aktiviert, wie Euler und Myrbäck gezeigt haben, ist nicht leicht zu verstehen. Man muß annehmen, daß für die alkoholische Gärung noch ein Faktor, der durch Waschen von Hefe entfernt wird und im Insulin fehlt, unentbehrlich ist. Ein interessanter, noch nicht ausgeführter Versuch wäre, ob auch der Kochsaft von Hefe die cozymase-freien Milchsäure-Bakterien aktivieren kann.

Die Versuche an Kaninchen werden ergeben, ob der Wasser-Extrakt aus dem Trockenpräparat der Milchsäure-Bakterien Insulin-Wirkung ausübt oder nicht.