

**Über Freien  
und Gebundenen Zucker  
in Blut und Organen**

A. GREVENSTUK Tz.

 Springer

# ÜBER FREIEN UND GEBUNDENEN ZUCKER IN BLUT UND ORGANEN

VON

**A. GREVENSTUK Tz.**

PHARMAKO-THERAPEUTISCHES LABORATORIUM  
IN AMSTERDAM

MIT 6 ABBILDUNGEN IM TEXT  
UND ZAHLREICHEN TABELLEN



SPRINGER-VERLAG BERLIN HEIDELBERG GMBH

1929

Sonderausgabe aus „Ergebnisse der Physiologie“,  
herausgegeben von L. Asher und K. Spiro, Bd. 28.

Alle Rechte,  
insbesondere das der Übersetzung in fremde Sprachen, vorbehalten.

Copyright 1929 by Springer-Verlag Berlin Heidelberg

Ursprünglich erschienen bei J. F. Bergmann, München 1929

Softcover reprint of the hardcover 1st edition 1929

ISBN 978-3-642-52526-1 ISBN 978-3-642-52580-3 (eBook)  
DOI 10.1007/978-3-642-52580-3

# Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Literaturverzeichnis . . . . .	1
I. Einleitung . . . . .	9
II. Die freien reduzierenden Substanzen des Blutes . . . . .	11
A. Bestimmungsmethoden . . . . .	11
B. Identifikation des Blutzuckers . . . . .	14
C. Physikalischer Zustand des „freien“ Blutzuckers . . . . .	24
III. Der „gebundene Zucker“ des Blutes . . . . .	25
A. In frischem Blut . . . . .	26
B. In den übrigen Körperflüssigkeiten . . . . .	38
C. In enteweissten Blutextrakten . . . . .	39
D. Verteilung zwischen Erythrocyten und Plasma bzw. Serum . . . . .	47
IV. Die freien reduzierenden Substanzen der Gewebe . . . . .	49
V. Der „gebundene Zucker“ der Gewebe, mit Ausnahme des Glykogens . . . . .	53
VI. „Freier“ und „gebundener Zucker“ des nichtdiabetischen Harns . . . . .	66
VII. Identifizierung der durch Hydrolyse mit Säure abspaltbaren reduzierenden Substanzen . . . . .	71
A. Durch Phenylhydrazin und seine Derivate . . . . .	71
B. Durch Vergärung . . . . .	81
C. Durch Farbreaktionen . . . . .	82
D. Durch Benzoylierung . . . . .	87
E. Durch die optische Rotation . . . . .	88
F. Durch besondere physikalisch-chemische Eigenschaften . . . . .	88
Fehlerquellen . . . . .	96
VIII. Kondensation von Hexosen mit Eiweiss, „Eiweisszucker“ . . . . .	98
Mit Eiweissderivaten . . . . .	109
IX. Kondensation von Hexosen (und Amino-hexosen) mit anderen Kohlenhydraten: Amylosen (Glykogen), Zuckcranhydride . . . . .	112
X. Kondensation von Hexosen mit Fetten und Fettderivaten . . . . .	124
XI. Kondensation von Hexosen mit Phosphaten, Lactacidogen . . . . .	130
„Sucre virtuel“, „Glykoside“, „Glykolyse“ . . . . .	141
XII. Kondensation von Hexosen mit Lipinen: „Jecorin“, Galaktolipine . . . . .	156
Anhang: Plasmalogen . . . . .	171
XIII. Kondensation von Pentosen zu verschiedenen Verbindungen, Nucleoproteide, Nucleotide . . . . .	178
XIV. Glykuronsäure und ihre Verbindungen . . . . .	180
XV. Hexosamine und ihre Verbindungen . . . . .	183
XVI. Glutathion . . . . .	186
XVII. Physiologie des „gebundenen Zuckers“ des Blutes . . . . .	187
A. Bei verschiedenen Tierarten und Individuen . . . . .	187
B. Beim selben Individuum in verschiedenen Gefässbezirken . . . . .	189
1. In den peripheren Gefässen . . . . .	189
2. In den Gefässen der parenchymatösen Organe, mit Ausnahme der Leber . . . . .	191
3. In den Gefässen, die zur Leber in Beziehung stehen . . . . .	191
C. Beim selben Individuum unter verschiedenen physiologischen Umständen . . . . .	192

	Seite
XVIII. Pathologie des „gebundenen Zuckers“ des Blutes . . . . .	196
A. Stoffwechselkrankheiten . . . . .	196
1. Diabetes . . . . .	196
2. Arthritismus, Basedow, Diabetes insipidus, Adipositas . . . . .	200
3. Carcinom . . . . .	200
B. Blutkrankheiten . . . . .	202
C. Krankheiten des Kreislaufapparates . . . . .	202
D. Krankheiten des Atmungsapparates . . . . .	203
E. Krankheiten des Digestionsapparates . . . . .	203
F. Krankheiten des Urogenitalapparates . . . . .	205
G. Krankheiten des Nervensystems . . . . .	207
H. Fieberhafte Allgemeinerkrankungen . . . . .	207
XIX. Experimentell-pathologische Beeinflussung des „gebundenen Zucker“-Gehalts des Blutes . . . . .	207
1. Pankreasexstirpation . . . . .	207
2. Unterbindung des Ductus Wirsungianus . . . . .	209
3. Nierenläsionen . . . . .	209
4. Punktion des vierten Ventrikels . . . . .	209
5. Vagusreizung . . . . .	210
6. Hirnerschütterung . . . . .	210
7. Röntgenbestrahlung . . . . .	210
8. Erhöhung der Körpertemperatur . . . . .	210
9. Erniedrigung der Körpertemperatur . . . . .	210
10. Blutverluste . . . . .	210
11. Hungern . . . . .	210
12. Avitaminosen . . . . .	212
13. Exstirpation von Milz, Schilddrüse und Geschlechtsdrüsen . . . . .	212
XX. Pharmakologische Beeinflussung des „gebundenen Zucker“-Gehalts des Blutes . . . . .	213
A. Erniedrigende Agenzien . . . . .	213
1. Insulin . . . . .	213
2. Adrenalin . . . . .	218
3. Pituitrin . . . . .	220
4. Perfusionsflüssigkeit des Gefäßsystems . . . . .	221
5. Unbekannter Stoff . . . . .	221
6. Morphin . . . . .	221
7. Äther . . . . .	221
8. Diphtherietoxin . . . . .	222
9. Äthylalkohol . . . . .	222
10. Phlorhizin . . . . .	222
11. Histamin . . . . .	222
12. Pepton . . . . .	222
13. Ergotamin . . . . .	222
B. Erhöhende Agenzien . . . . .	222
1. Insulin . . . . .	222
2. Thyreoidpräparate . . . . .	226
3. Hypophysenpräparate . . . . .	226
4. Nebennierenpräparate, Adrenalin . . . . .	226
5. Leberextrakte . . . . .	227
6. Sekretin . . . . .	227
7. Asphyktisches Blut . . . . .	227
8. Amylase . . . . .	227
9. Phytokin . . . . .	227
10. Chloroform . . . . .	227
11. Kohlenoxyd . . . . .	227

	Seite
12. Antipyrin . . . . .	227
13. Bleisalze . . . . .	227
14. Quecksilbersalze . . . . .	227
15. Säuren . . . . .	227
16. Morphin . . . . .	227
17. Hyoscin . . . . .	227
18. Veratrin . . . . .	228
19. Phloretin . . . . .	228
20. Phlorhizin . . . . .	228
21. Hydrazinsulfat . . . . .	228
XXI. Physiologie und Pathologie des „gebundenen Zuckers“ der Gewebe . . . . .	229
XXII. Experimentelle Beeinflussung des „gebundenen Zucker“-Gehaltes der Gewebe . . . . .	231
Anhang: 1. Restkohlenstoff . . . . .	236
2. Gesamtkohlenstoff . . . . .	238
3. Dysoxydative Carbonurie . . . . .	238
Zusammenfassung . . . . .	239

(Aus dem Pharmakotherapeutischen Laboratorium der Universität Amsterdam.)  
(Direktor: Prof. Dr. E. Laqueur.)

# Über freien und „gebundenen“ Zucker in Blut und Organen.

Von

A. Grevenstuk Tz., Amsterdam.

## Literaturverzeichnis.

1. *Abderhalden, E., P. Bergell* und *T. Doerpinghaus*, *Z. physiol. Chem.* **41**, 530 (1904). — 2. *Adler, O.* und *R. Adler*, *Pflügers Arch.* **110**, 99 (1905). — 2a. *Anciaes, J. H. Cascao de* et *C. Trincao*, *C. r. Soc. Biol.* **98**, 1003 (1928). — 3. *Anderson, A. B.* and *A. Caruthers*, *Biochemic. J.* **20**, 556 (1926). — 5. *Armstrong, E. F.*, *The carbohydrates and the glucosides*. 4. Ed. London: Longmans 1924. — 6. *Arndt*, *Klin. Wschr.* **1926 I**, 916. — 7. *Arnoldi, W.* und *I. A. Collazo*, *Z. exper. Med.* **40**, 323 (1924). — 8. *Aszódi, Z.*, *Biochem. Z.* **192**, 8 (1928). — 9. *Audova, A.* et *R. Wagner*, *C. r. Soc. Biol.* **90**, 308 (1924). — 10. *Dieselben*, *Klin. Wschr.* **1924 I**, 231.
11. *Baisch*, *Z. physiol. Chem.* **19**, 339 (1894). — 12. *Baldi, D.*, *Arch. f. Physiol.* **1887**, Suppl.-Bd. S. 100. — 13. *Bang, I.*, *Der Blutzucker*. Wiesbaden: J. F. Bergmann 1913. — 14. *Derselbe* und *J. Forsmann*, *Hofmeisters Beitr.* **8**, 238 (1906). — 15. *Barát, I.* und *G. Hetényi*, *Dtsch. Arch. klin. Med.* **141**, 358 (1923). — 16. *Barre, J. la*, *Arch. f. exper. Path.* **113**, 368 (1926). — 16a. *Derselbe*, *C. r. Soc. Biol.* **97**, 725 (1927). — 17. *Barrenscheen, H. K.* und *R. Berger*, *Biochem. Z.* **177**, 81 (1926). — 18. *Derselbe, F. Doleschall* und *L. Popper*, *Biochem. Z.* **177**, 39, 50, 67, 76 (1926). — 19. *Derselbe, H. Kahler* und *H. Hechl*, *Biochem. Z.* **167**, 77 (1926). — 20. *Baskoff, A.*, *Z. physiol. Chem.* **57**, 395 (1908). — 21. *Derselbe*, *Z. physiol. Chem.* **61**, 426 (1909). — 22. *Derselbe*, *Z. physiol. Chem.* **62**, 162 (1909). — 23. *Beilstein*, *Handbuch der organischen Chemie*. 4. Aufl. **1**, 846. Berlin: Julius Springer 1918. — 24. *Benech, J.*, *C. r. Soc. Biol.* **87**, 345 (1922). — 25. *Benedict, S. R.*, *J. of biol. Chem.* **76**, 457 (1928). — 25a. *Derselbe*, zit. nach Matthews: *Physiological Chemistry*. 3. Ed. London: Baillière 1921. — 26. *Bernhard, F.* *Biochem. Z.* **157**, 396 (1925). — 27. *Bert, P.*, *Gaz. Méd.* **1879**, 22; zit. nach Malys *Jber.* **9**, 38 (1880). — 28. *Bertrand, G.*, *Bull. Soc. de Chim. biol.* **7**, 436 (1925). — 29. *Best, C. H., H. H. Dale, J. P. Hoet* and *H. P. Marks*, Abstracts of communications. 12. *Internat. physiol. Kongr. Stockholm 1926*, 16. — 29a. *Derselbe, J. P. Hoet* and *H. P. Marks*, *Proc. roy. Soc., Sect. B*, **100**, 32 (1926). — 29b. *Derselbe* and *H. P. Marks*, *Proc. roy. Soc., Sect. B*, **100**, 32 (1926). — 29c. *Best, J. W.*, *Bijdrage tot de kennis der suikers van het bloed*. Inaug.-Diss. Utrecht 1918. — 30. *Bickel, A.*, *Klin. Wschr.* **1925 II**, 1568. — 31. *Derselbe* und *Kaufmann-Cosla*, *Biochem. Z.* **166**, 251 (1925). — 32. *Dieselben*, *Dtsch. med. Wschr.* **1925**, 978. — 33. *Dieselben*, *Klin. Wschr.* **1925 II**, 1986. — 34. *Dieselben*, *Münch. med. Wschr.* **1925**, 976. — 35. *Dieselben*, *Münch. med. Wschr.* **1925**, 1018. — 36. *Bierry, H.*, *C. r. Acad. Sci.* **168**, 1225 (1918). — 37. *Derselbe*, *C. r. Acad. Sci.* **169**, 1112 (1919). — 38. *Derselbe*, *C. r. Soc. Biol.* **73**, 453 (1912). — 39. *Derselbe*, *C. r. Soc. Biol.* **83**, 894 (1920). — 39a. *Derselbe*, *C. r. Soc. Biol.* **96**, 606 (1927). — 39b. *Derselbe*, *C. r. Soc. Biol.* **96**, 1152 (1927). — 39c. *Derselbe*, *C. r. Soc. Biol.* **97**, 1456 (1927). — 39d. *Derselbe*, *C. r. Soc. Biol.* **98**, 431 (1928). — 40. *Derselbe* et *L. Fandard*, *C. r. Acad. Sci.* **156**, 480

- (1913). — 41. *Dieselben*, C. r. Acad. Sci. **156**, 2010 (1913). — 42. *Dieselben*, C. r. Acad. Sci. **158**, 61 (1914). — 43. *Dieselben*, C. r. Acad. Sci. **158**, 516 (1914). — 44. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **72**, 928 (1912). — 45. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **73**, 96 (1912). — 46. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **73**, 454 (1912). — 47. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **73**, 707 (1912). — 48. *Derselbe* et *Z. Gruzewska*, C. r. Soc. Biol. **76**, 824 (1914). — 49. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **82**, 859 (1919); C. r. Acad. Sci. **158**, 1828 (1914). — 50. *Derselbe* et *L. Moquet*, C. r. Soc. Biol. **90**, 1316 (1924). — 51. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **92**, 593 (1925). — 52. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **93**, 322 (1925). — 53. *Derselbe* et *P. Portier*, C. r. Soc. Biol. **54**, 1276 (1902). — 54. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **66**, 577 (1909). — 55. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **74**, 570 (1913). — 56. *Derselbe* et *A. Ranc*, C. r. Acad. Sci. **158**, 278 (1914). — 57. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **77**, 386 (1914). — 58. *Derselbe* et *L. Randoïn-Fandard*, C. r. Soc. Biol. **81**, 476 (1918). — 59. *Derselbe* et *F. Rathery*, C. r. Acad. Sci. **172**, 244 (1921). — 60. *Dieselben*, C. r. Acad. Sci. **172**, 1445 (1921). — 61. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **83**, 1590 (1920). — 62. *Dieselben*, Presse méd. **1927 II**, 1177. — 63. *Dieselben* et *F. Bordet*, C. r. Acad. Sci. **174**, 970 (1922). — 64. *Dieselben*, *J. Gournay* et *R. Kourilsky*, C. r. Soc. Biol. **90**, 615 (1924). — 65. *Dieselben* et *R. Kourilsky*, C. r. Soc. Biol. **90**, 36 (1924). — 66. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **90**, 417 (1924). — 67. *Derselbe*, *F. Rathery* et *L. Levina*, C. r. Acad. Sci. **173**, 56 (1921). — 68. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **86**, 1135 (1922). — 68a. *Derselbe* et *A. Voskressensky*, C. r. Soc. Biol. **97**, 659 (1927). — 68b. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **98**, 287 (1928). — 68c. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **98**, 744 (1928). — 69. *Bigwood*, *E. J.* et *A. Wuillot*, C. r. Soc. Biol. **96**, 414 (1927). — 70. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **96**, 417 (1927). — 70a. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **97**, 186 (1927). — 70b. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **97**, 187 (1927). — 71. *Bing*, *H. J.*, Skand. Arch. Physiol. **9**, 336 (1899). — 72. *Derselbe*, Skand. Arch. Physiol. **11**, 166 (1901). — 73. *Bisceglie*, *V.*, Clin. med. ital. **56**, 215 (1925); zit. nach Ber. Physiol. **34**, 841 (1926). — 74. *Bissinger*, *E.*, Biochem. Z. **168**, 421 (1926). — 75. *Derselbe* und *E. J. Lesser*, Biochem. Z. **168**, 398 (1926). — 76. *Blatherwick*, *N. R.*, *M. Bell* and *E. Hill*, J. of biol. Chem. **59**, XXV (1924). — 77. *Dieselben*, J. of biol. Chem. **61**, 241 (1924). — 78. *Bloor*, *W. R.*, J. of biol. Chem. **7**, 427 (1909); **11**, 141, 421 (1912). — 79. *Blumenthal*, *F.*, Z. klin. Med. **34**, 166 (1898); zit. nach Malys Jber. **28**, 16 (1899). — 80. *Boehm*, *R.* und *F. A. Hoffmann*, Arch. f. exper. Path. **10**, 12 (1879). — 81. *Bolliger*, *A.* and *F. W. Hartman*, J. of biol. Chem. **63**, LVI (1925); **64**, 91 (1925). — 82. *Bonanni*, *A.*, Boll. Accad. Med. Roma **27** (33), I (1906/07). — 83. *Bordet*, *F.*, Presse méd. **1927 II**, 1063. — 84. *Derselbe*, Thèse de Paris **1922**. — 85. *Borsock*, *H.* and *H. Wastenedys*, Biochemic. J. **19**, 1128 (1925). — 86. *Bos*, *J. J.*, Bijdrage tot de kennis der glycogenese bij den diabetes mellitus. Inaug.-Diss. Leiden 1867. — 87. *Boulud*, *R.*, J. Physiol. et Path. gén. **11**, 12 (1909). — 88. *Brugi*, *A.*, Atti Congr. Med. Int. 1924, 1925, 1926; Attivita med. ital. **7**, Nr I (Sept. 1925). — 89. *Derselbe*, Minerva med. **5**, Nr 25 (10. Sept. 1925). — 90. *Brugsch*, *Th.*, *M. Cahen* und *H. Horsters*, Biochem. Z. **164**, 199 (1925). — 91. *Dieselben*, Biochem. Z. **175**, 120 (1926). — 92. *Derselbe* und *H. Horsters*, Biochem. Z. **151**, 203 (1924). — 93. *Dieselben*, Biochem. Z. **155**, 459 (1925). — 94. *Dieselben*, Biochem. Z. **175**, 90 (1926). — 95. *Dieselben*, Biochem. Z. **175**, 115 (1926). — 96. *Dieselben*, Z. physiol. Chem. **157**, 186 (1926). — 97. *Bufano*, *M.*, Ann. Clin. terap. **1925**, **1926**. — 98. *Derselbe*, Arch. Farmacol. sper. **1925**, **1926**. — 99. *Burghard* und *Paffrath*, Klin. Wschr. **1927 I**, 875. — 100. *Dieselben*, Klin. Wschr. **1927 II**, 1479. — 101. *Burn*, *J. H.* and *H. P. Marks*, J. of Physiol. **61**, 497 (1926). — 102. *Bywaters*, *H. W.*, Biochem. Z. **15**, 322 (1909). — 103. *Derselbe*, J. of Physiol. **35**, 3 (1907).
104. *Caltabiano*, *D.*, Ann. Clin. terap. **1924**, **1925**. — 105. *Derselbe*, Policlinico, Sez. med. **1925**. — 106. *Derselbe*, Sicilia sanitaria **4**, Nr 2/3 (1925). — 107. *Derselbe*, Sicilia sanitaria **4**, Nr 12 (1926). — 108. *Cammidge*, *P. J.*, Privatmitt. — 109. *Derselbe*, Brit. med. J. **1923 I**, 787. — 110. *Derselbe*, *J. A. C. Forsyth* and *H. A. H. Howard*, Lancet **1920 II**, 393. — 111. *Derselbe*, Lancet **1927 II**, 1356. — 112. *Derselbe* and *H. A. H. Howard*, New views on Diabetes mellitus. London: Hodder & Stoughton 1923. — 113. *Campbell*, *W. R.*, *A. A. Fletcher*, *J. Hepburn* and *J. Markowitz*, J. of biol. Chem. **67**, LVII (1926). — 114. *Mc Cance*, *R. A.*, Biochemic. J. **20**, 1111 (1926). — 115. *Carra*, Il Morgagni **1925**; zit. nach Condorelli (139). — 115a. *Chahovitch*, *X.* and *V. Arnovljevitch*, C. r. Soc.

Biol. **96**, 1010 (1927). — 116. *Channon, H. J.* and *G. F. Marrian*, C. r. Soc. Biol. **20**, 409 (1926). — 117. *Chatrovitch, X., V. Arnovtzevitch* et *Mlle. M. Vichnjitch*, C. r. Acad. Sci.; zit. nach Presse méd. **1927 II**, 838. — 118. Chemiker-Kalender I **1923**. Berlin: Julius Springer. — 119. *Clark, A. H.*, J. of exper. Med. **24**, 621 (1916). — 120. *Derselbe*, J. of exper. Med. **26**, 721 (1917). — 121. *Cole, S. W.*, Practical Physiological Chemistry. 7. Ed. Cambridge: Heffer 1926. — 122. *Collazo, J. A., M. Haendel* und *P. Rubino*, Klin. Wschr. **1924 I**, 323. — 123. *Dieselben*, Dtsch. med. Wschr. **1924 I**, 747. — 124. *Derselbe* und *Supniewski*, Biochem. Z. **154**, 423 (1925). — 125. *Condorelli, L.*, Ann. Clin. terap. **1924**. — 126. *Derselbe*, Ann. Clin. terap. **1925**. — 127. *Derselbe*, Ann. Clin. terap. **1926**. — 128. *Derselbe*, Atti Accad. Med. Napoli **1925**. — 129. *Derselbe*, Boll. Accad. Med. Roma **50**, 97 (1924). — 130. *Derselbe*, Boll. Accad. Med. Roma **50**, 378 (1924). — 131. *Derselbe*, Boll. Accad. Med. Roma **50**, 394 (1924). — 132. *Derselbe*, Giorn. Biol. sper. **1924**, H. 12/13. — 133. *Derselbe*, Giorn. Clin. med. **5**, 10 (Febr. 1924). — 134. *Derselbe*, Giorn. Sci. med. e biol. **1924**. — 135. *Derselbe*, Osservat. med. **1**, Nr 1 (Nov.-Dez. 1923). — 136. *Derselbe*, Policlinico, Sez. med. **1924** (1. März), 125. — 137. *Derselbe*, Policlinico, Sez. med. **32**, 317 (1925). — 138. *Derselbe*, Policlinico, Sez. med. **1926**. — 139. *Derselbe*, Presse méd. **1927 II**, 962. — 140. *Derselbe*, Probl. Nutriz. **2**, Nr 6/12 (1925). — 140a. *Conti, F.*, Minerva med. **7**, Nr 7 (1927). — 141. *Coope, R.*, J. of Physiol. **60**, 92 (1925). — 142. *Derselbe* and *E. N. Chamberlain*, J. of Physiol. **60**, 69 (1925). — 143. *Cooper, E. A.* and *H. Walker*, Biochemic. J. **15**, 415 (1921). — 144. *Dieselben*, Biochemic. J. **16**, 455 (1922). — 145. *Cori, C. F.*, J. of Pharmacol. **25**, 1 (1925). — 146. *Derselbe*, Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **21**, 419 (1924). — 147. *Derselbe* and *G. T. Cori*, J. of Pharmacol. **24**, 465 (1925). — 148. *Dieselben*, and *G. W. Pucher*, J. of Pharmacol. **21**, 377 (1923). — 149. *Derselbe* and *H. L. Goltz*, Amer. J. Physiol. **72**, 256 (1925). — 150. *Mc Cormick, N. A.* and *J. J. R. Macleod* (c. s.), Amer. J. Physiol. **63**, 389 (1923). — 151. *Dieselben*, Proc. roy. Soc., Sect. B. **98** (1925).

152. *Dakin, H. D.*, Oxydations and reductions in the animal Body. 2. Ed. London: Longmans 1922. — 153. *Daniels, L. Polak, W. Storm van Leeuwen* en *P. van der Wielen*, Diuretica. Monographie, herausgeg. vom Rijksinstituut voor Pharmacotherapeutisch Onderzoek, Leiden **1925**, 20. — 154. *Delaville* et *M. Richter-Quittner*, C. r. Soc. Biol. **91**, 595 (1924). — 155. *Delprat, C. C.*, Inaug.-Diss. Amsterdam 1881. Haarlem: Erven Loosjes. Zit. nach Malys Jber. **11**, 321 (1882). — 156. *Denigès, G.*, Bull. Soc. de Chim. biol. **7**, 440 (1925). — 157. *Desgrez, Bierry* et *Rathery*, C. r. Acad. Sci. **173**, 259 (1921). — 158. *Dische, Z.* und *H. Popper*, Biochem. Z. **175**, 371 (1926). — 159. *Dieselben*, Klin. Wschr. **1926 II**, 1973. — 159a. *Drechsel, E.*, J. prakt. Chem. **33**, 425 (1886). — 160. *Duggan, W. F.* and *E. L. Scott*, J. of biol. Chem. **67**, 287 (1926). — 161. *van Dyke*, Arch. f. exper. Path. **1926/27**. Zit. nach Trendelenburg in Asher-Spiros. Erg. Physiol. **25**, 423 (1926).

162. *Eadie, G. S., J. J. R. Macleod* and *E. C. Noble*, Amer. J. Physiol. **72**, 614 (1925). — 163. *Edie, E. S.* and *D. Spence*, Biochemic. J. **2**, 103 (1907). — 164. *Ege, R.*, Biochem. Z. **87**, 92 (1918). — 165. *Derselbe*, Biochem. Z. **107**, 229 (1920). — 166. *Derselbe*, J. of biol. Chem. **68**, 317 (1926). — 167. *Derselbe* och *K. M. Hansen*, Acta med. scand. (Stockh.) **1927**, 26. Jan., 279. Zit. nach Brit. med. J. **1927 I**, Epitome, 66. — 168. *Eichholtz, F.*, Klin. Wschr. **1925 II**, 1959. — 169. *Derselbe*, Verh. pharmakol. Ges., 5. Tag. **1925**, 73. — 170. *Derselbe, R. Robison* and *L. Brull*, Proc. roy. Soc., Sect. B. **99**, 91 (1925). — 171. *Eichholz, A.*, J. of Physiol. **23**, 163 (1898). — 172. *Embden, G.*, Hofmeisters Beitr. **6**, 44 (1905). — 173. *Derselbe* und *F. Laquer*, Z. physiol. Chem. **113**, 1 (1921). — 174. *Derselbe* und *M. Zimmermann*, Z. physiol. Chem. **167**, 114 (1927). — 175. *Dieselben*, Z. physiol. Chem. **167**, 137 (1927). — 176. *Enselme, M.* et *Mme*, C. r. Acad. Sci. **184**, 1353 (1927). — 177. *Ernst, Z.* und *J. Foerster*, Biochem. Z. **169**, 498 (1926). — 178. *v. Euler, H.* und *E. Brunius*, Ber. dtseh. chem. Ges. **60**, 992 (1927). — 179. *Dieselben*, Ber. dtseh. chem. Ges. **60**, 997 (1927). — 180. *Dieselben* und *K. Josephson*, Z. physiol. Chem. **155**, 259 (1926). — 181. *Derselbe* und *R. Nilsson*, Z. physiol. Chem. **145**, 184 (1925).

182. *v. Falkenhausen, M.* und *H. Hirsch-Kaufmann*, Z. exper. Med. **58**, 567 (1927). — 183. *Fandard, L.* et *A. Ranc*, C. r. Soc. Biol. **74**, 740 (1913). — 184. *Feigl, J.*, Biochem. Z. **77**, 189 (1916); **80**, 330 (1917). — 185. *Derselbe*, Biochem. Z. **89**, 126 (1918). — 186. *Feulgen, R.*,

- Z. physiol. Chem. **88**, 370 (1913). — 187. *Derselbe*, Z. physiol. Chem. **106**, 249 (1919). — 188. *Derselbe*, Z. physiol. Chem. **125**, 284 (1923). — 189. *Derselbe* und *K. Imhäuser*, Biochem. Z. **181**, 30 (1927). — 190. *Dieselben* und *M. Westhues*, Biochem. Z. **193**, 251 (1926). — 191. *Derselbe* und *K. Voit*, Pflügers Arch. **206**, 389 (1924). — 192. *Figuiet*, Gaz. hebdomadaire **1855**, 634. Zit. nach *Lépine*, Sucre du sang. p. 35. — 193. *Filippi, F. de*, Bull. R. Accad. Med. Roma **27** (33), 150 (1906/07). — 194. *Fischer, E.*, Ber. dtsh. chem. Ges. **41**, 73 (1908). Zit. nach *Malys Jber.* **38**, 88 (1909). — 194a. *Derselbe* und *Tafel*, Ber. dtsh. chem. Ges. **20**, 3387 (1887). — 195. *Fischler, F.*, Klin. Wschr. **1927 I**, 620. — 196. *Derselbe*, Münch. med. Wschr. **1927 I**, 680. — 197. *Derselbe*, Z. physiol. Chem. **165**, 53 (1927). — 198. *Derselbe* und *O. Hirsch*, Arch. f. exper. Path. **127**, 287 (1928). — 199. *Flatow*, Münch. med. Wschr. **1926 I**, 12. — 200. *Folin, O.*, J. of biol. Chem. **67**, 357 (1926). — 201. *Derselbe*, Z. physiol. Chem. **23**, 347 (1897). — 202. *Derselbe* and *H. Berglund*, J. of biol. Chem. **51**, 213 (1922). — 203. *Derselbe* and *A. Svedberg*, J. of biol. Chem. **70**, 405 (1926). — 203a. *Fontès, G. et L. Thivolle*, Bull. Soc. de Chim. biol. **9**, 357 (1927). — 203b. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **96**, 994 (1927). — 204. *Fornet, F. W.*, Dtsch. med. Wschr. **1926 II**, 1946. — 205. *Derselbe* and *E. Christensen*, Lancet **1926 I**, 49. — 206. *Dieselben*, Münch. med. Wschr. **1926 I**, 955. — 207. *Forschbach, J.* and *H. Schaeffer*, Arch. f. exper. Path. **82**, 344 (1918). — 208. *Fraenkel, S.* und *C. Jellinek*, Biochem. Z. **185**, 392 (1927). — 209. *Fraisse, A.*, Thèse de Lyon (Pharmacie) **1906/07**. Zit. nach *Malys Jber.* **37**, 96 (1908). — 210. *Frank, A.*, Biochem. Z. **50**, 273 (1913). — 211. *Frank, E.* und *A. Bretschneider*, Z. physiol. Chem. **76**, 226 (1911). — 212. *Derselbe* und *S. Isaac*, Arch. f. exper. Path. **64**, 274 (1911). — 213. *Franke* and *Wagner, J.* metab. Res. **6**, 375 (1924). Zit. nach *Cambridge* (111). — 214. *Friend, H.*, J. Labor. a. clin. Med. **11**, 950 (1926). Zit. nach *Nederl. Tijdschr. Geneesk.* **1926 II**, 1784. — 215. *Freund, E.*, Zbl. Physiol. **6**, 345 (1892). — 216. *Derselbe* und *G. Kammerer*, Biochemische Grundlagen der Disposition für Carcinom. Wien: Julius Springer 1925. — 217. *Fukui, T.*, Pflügers Arch. **210**, 410, 427 (1925). — 218. *Funk, C.*, Dtsch. med. Wschr. **1927 I**, 21; Klin. Wschr. **1927 I**, 184; Paris méd. **61**, 389 (1927).
219. *Gabbe, E.*, Biochem. Z. **187**, 57 (1927). — 220. *Derselbe*, Klin. Wschr. **1927 I**, 1210. — 221. *Derselbe*, Klin. Wschr. **1927 II**, 1974. — 222. *Derselbe*, Verh. dtsh. pharmakol. Ges. **7**, 49 (1928). — 223. *Gee, A. H.* and *I. L. Chaikoff*, J. of biol. Chem. **70**, 151 (1926). — 224. *Geill, T.*, Klin. Wschr. **1927 I**, 220. — 225. *Gigon, A.*, Asher-Spiros Erg. Physiol. **24**, 198 (1925). — 226. *Derselbe*, Biochem. Z. **174**, 257 (1926). — 227. *Derselbe*, Schweiz. med. Wschr. **1924 II**, 1126. Zit. nach *J. amer. med. Assoc.* **1925 I**, 321. — 228. *Derselbe*, Schweiz. med. Wschr. **1925**, 968. Zit. nach *Klin. Wschr.* **1926 I**, 1100. — 229. *Derselbe* und *W. Brauch*, Z. exper. Med. **49**, 698 (1926). — 230. *Glassmann, B.*, Z. physiol. Chem. **158**, 113 (1926). — 231. *Derselbe*, Z. physiol. Chem. **162**, 149 (1927). — 232. *Derselbe*, Z. physiol. Chem. **167**, 245 (1927). — 233. *Goodwin* und *Robison*, Biochemic. J. **18**, 1161 (1924). — 234. *Gottschalk, A.*, Klin. Wschr. **1924 II**, 1356. — 235. *Derselbe*, Klin. Wschr. **1925 I**, 789; Wien. klin. Wschr. **1925 I**, 373. — 236. *Derselbe*, Z. physiol. Chem. **170**, 23 (1927). — 236a. *Grevenstuck, A.*, *Nederl. Tijdschr. Geneesk.* **1927 I**, 974 (mit störenden Druckfehlern!); Arch. néerl. Physiol. **1927**. — 237. *Derselbe* und *E. Laqueur*, Asher-Spiros Erg. Physiol. **23 II**, 1 (1925); Insulin. München: J. F. Bergmann 1925. — 238. *Griesbach*, Klin. Wschr. **1925 II**, 1989. — 239. *Derselbe*, Verh. dtsh. pharmakol. Ges. 5. Tag. **1925**, 33. — 240. *Grimbert, L.*, C. r. Soc. Biol. **55**, 183 (1903). Zit. nach *Malys Jber.* **33**, 97 (1904). — 241. *Gruat, E.* et *F. Rathery*, C. r. Soc. Biol. **83**, 896 (1920). — 242. *Grund*, Z. physiol. Chem. **35**, 111 (1902). — 243. *Guggenheim, M.*, Die biogenen Amine. 2. Aufl. Berlin: Julius Springer 1924. — 244. *Gutmann, S.* und *O. Adler*, Biochem. Z. **83**, 11 (1917). — 245. *Gyoergy, P.*, Biochem. Z. **161**, 157 (1925).
246. *Haar, A. W. v. d.*, Biochem. Z. **88**, 205 (1918). — 247. *Haeusler, H.*, Pflügers Arch. **217**, 134 (1927). — 248. *Hammarsten, O.*, Z. physiol. Chem. **19**, 19 (1894). — 249. *Derselbe*, Z. physiol. Chem. **118**, 224 (1922). — 250. *Handovsky, H.*, Klin. Wschr. **1927 II**, 2464. — 251. *Hanriot, C. r. Soc. Biol.* **50**, 543 (1898). Zit. nach *Lépine* (323), Pavy and Siau (437) und Best (29a). — 252. *Harned, B. K.*, J. of biol. Chem. **65**, 555 (1925). — 253. *Harrop, G. A.* and *E. M. Benedict*, J. of biol. Chem. **59**, 683 (1924). — 254. *Dieselben*, Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **20**, 430 (1923). — 255. *Havard, R. E.* and *G. A. Reay*, Biochemic. J.

- 19, 882 (1925). — 256. *Hédon*, C. r. Soc. Biol. **50**, 511 (1898). Zit. nach Best (29a). — 257. *Henriques*, V., Z. physiol. Chem. **23**, 246 (1897). — 258. *Hentschel*, H. und *E. Zoeller*, Z. Kinderheilk. **44**, 146 (1927). Zit. nach Klin. Wschr. **1928 I**, 129. — 259. *v. Hess*, C. L. and *H. Mc Guigan*, J. of Pharmacol. **6**, 45 (1914). — 260. *Hetenyi*, G., Z. exper. Med. **45**, 439 (1925). — 261. *Hetenyi*, S. und *J. Pogany*, Klin. Wschr. **1928 I**, 404. — 262. *Hiller*, A., G. C. *Linder* and *D. D. van Slyke*, J. of biol. Chem. **64**, 625 (1925). — 263. *Hoest* and *Hatlehol*, J. of biol. Chem. **42**, 347 (1920). — 264. *Holden*, H. F., Biochemic. J. **19**, 727 (1925). — 265. *Derselbe*, Biochemic. J. **20**, 263 (1926). — 266. *Holmes*, E. G. and *B. E. Holmes* (and *F. G. Hopkins*), Biochemic. J. **20**, 595 (1926). — 267. *Hopkins*, F. G. and *M. Dixon*, J. of biol. Chem. **54**, 527 (1922). — 268. *Hoppe-Seyler*, Med.-chem. Untersuch. **1871**, H. 4, 495. Zit. nach *Walz* (532). — 269. *Huppert*, Z. physiol. Chem. **18**, 144 (1893). — 270. *Derselbe* und *Czerny*, Zbl. Physiol. **6**, 394 (1892). — 271. *Hunter*, G., Biochemic. J. **22**, 4 (1928). — 272. *Hynd*, A., Biochemic. J. **19**, 1095 (1925). — 273. *Derselbe*, Biochemic. J. **20**, 195, 205 (1926).
274. *Imhaeuser*, K., Klin. Wschr. **1927 II**, 1495. — 275. *Derselbe*, Biochem. Z. **186**, 360 (1927). — 276. *Derselbe*, Biochem. Z. **193**, 416 (1928). — 277. *Ivancevic*, I., Arch. f. exper. Path. **122**, 24 (1927).
278. *Jackson*, J. of biol. Chem. **59**, 529 (1924). — 279. *Jacobsen*, A., Zbl. Physiol. **6**, 368 (1892). — 280. *Derselbe*, Skand. Arch. Physiol. **6**, 262 (1895). — 281. *v. Jaksch*, Z. klin. Med. **11**, 20 (1886). Zit. nach *Miura* (395). — 282. *de Jongh*, S. E., Biochemic. J. **18**, 833 (1924). — 283. *Jost*, H., Z. physiol. Chem. **165**, 171 (1927).
284. *Kaminer*, G., Die Biochemie des Carcinoms. Wien: Julius Springer 1926. — 285. *Karrer*, P., Polymere Kohlenhydrate. Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft 1925. — 286. *Kaufmann-Cosla*, O. et *J. Roche*, Ann. Méd. **20**, 128, 1926. Zit. nach *J. amer. med. Assoc.* **1926 II**, 1777. — 287. *Kay*, H. D. and *R. Robison*, Biochemic. J. **18**, 1139 (1924). — 288. *Kermack*, W. O., C. G. *Lambie* and *R. H. Slater*, Biochemic. J. **20**, 486 (1926). — 289. *Klein*, G., Biochem. Z. **169**, 132 (1926). — 290. *Knopf*, M., Z. physiol. Chem. **89**, 170 (1914). — 291. *Derselbe*, Z. physiol. Chem. **92**, 159 (1914). — 292. *Koeroesy*, v., Z. physiol. Chem. **86**, 356 (1913). — 293. *Koning*, J. *Wittop*, Nederl. Tijdschr. Geneesk. **1921 II**, 19. — 294. *Kostytschew*, S. und *W. Brilliant*, Z. physiol. Chem. **127**, 224 (1923). — 295. *Kratschmer*, Wien. med. Wschr. **1883**, Nr 13/14. Zit. nach *Malys Jber.* **13**, 288 (1884). — 296. *Krause*, F., Z. physiol. Chem. **173**, 235 (1928). — 297. *Krawkow*, N., Pflügers Arch. **65**, 281 (1896). — 298. *Krok*, G., Biochem. Z. **92**, 84 (1918). — 299. *Kuelz*, E., Arch. f. exper. Path. **5**, 143 (1876). — 300. *Kurokawa*, T., Tohoku J. exper. Med. **5**, 438 (1925). — 301. *Derselbe*, Tohoku J. exper. Med. **10**, 64 (1928).
302. *Landwehr*, H. A., Z. physiol. Chem. **8**, 122 (1883). — 303. *Langstein*, L., Asher-Spiros Erg. Physiol. **1 I**, 63 (1902). — 304. *Derselbe*, Asher-Spiros Erg. Physiol. **3 I**, 453 (1904). — 305. *Derselbe*, Biochem. Z. **127**, 34 (1922). — 306. *Derselbe*, Hofmeisters Beitr. **1**, 259 (1902). — 307. *Derselbe*, Hofmeisters Beitr. **6**, 349 (1905). — 308. *Derselbe*, Mh. Chem. **24**, 445 (1903). Zit. nach *Malys Jber.* **33**, 30 (1904). — 309. *Derselbe*, Mh. Chem. **25**, 453 (1904). Zit. nach *Malys Jber.* **34**, 247 (1905). — 310. *Derselbe*, Mh. Chem. **26**, 531 (1905). Zit. nach *Malys Jber.* **35**, 6 (1906). — 311. *Derselbe*, Sitzgsber. ksl. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturwiss. Kl., III. Abt., **114**, 18 (1906). Zit. nach *Malys Jber.* **36**, 16 (1907). — 312. *Laquer*, F., Naturwiss. **1923**, 300. — 313. *Last*, E., Biochem. Z. **93**, 66 (1919). — 314. *Lattes*, Biochem. Z. **20**, 215 (1909). — 315. *Laufberger*, W., Klin. Wschr. **1924 I**, 264. — 316. *Derselbe*, Z. exper. Med. **42**, 570 (1924). — 317. *Lawaczek*, H., Biochem. Z. **145**, 351 (1924). — 318. *Derselbe*, Klin. Wschr. **1925 II**, 1858. — 319. *Lawrence*, R. D. and *R. F. L. Hewlett*, Brit. med. J. **1925 I**, 998. — 320. *Lean*, H. Mc., Lancet **1926 I**, 1129. — 321. *Leathes*, J. B. and *H. S. Raper*, The Fats. 2. Ed. London: Longmans 1925. — 322. *van Leersum*, E. C., Hofmeisters Beitr. **2**, 522 (1903). — 322a. *Lemaire*, F. A., Over het voorkomen van Koolhydraten in de urine van den gezonden mensch en over lactosurie by Kraamvrouwen. Inaug.-Diss. Utrecht 1895. — 323. *Lépine*, R., Le sucre du sang. Paris: Alcan 1921. — 324. *Derselbe*, J. of biol. Chem. **16**, 559 (1913). — 325. *Derselbe*, J. Physiol. et Path. gén. **17**, 377 (1917/18). — 326. *Derselbe*, J. Physiol. et Path. gén. **17**, 555 (1917/18). — 327. *Derselbe*, J. Physiol. et Path. gén. **17**, 747 (1917/18). — 328. *Derselbe*, J. Physiol. et Path. gén. **17**, 887, 897 (1917/18). —

329. *Derselbe et Barral*, C. r. Acad. Sci. **1891**. — 330. *Derselbe et Boulud*, Arch. internat. Pharmacodynamie **15**, 359 (1915). — 331. *Dieselben*, Arch. internat. Physiol. **14**, 91 (1914). — 331a. *Dieselben*, C. r. Acad. Sci. **133**, 138 (1901). — 332. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **66**, 1096 (1909). — 333. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **68**, 260 (1910). — 334. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **72**, 1064 (1912). — 335. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **73**, 272 (1912). — 336. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **73**, 589 (1912). — 337. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **73**, 591 (1912). — 338. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **74**, 76 (1913). — 339. *Dieselben*, J. Physiol. et Path. gén. **7**, 775 (1905). — 340. *Dieselben*, J. Physiol. et Path. gén. **8**, 581 (1906). — 341. *Dieselben*, J. Physiol. et Path. gén. **11**, 557 (1909). — 342. *Dieselben*, J. Physiol. et Path. gén. **13**, 178 (1911). — 343. *Levene, P. A.*, Hexosamines and Mucoproteins. London: Longmans 1925. — 344. *Derselbe*, Biochem. Z. **16**, 246 (1909). — 345. *Derselbe and G. M. Meyer*, J. of biol. Chem. **9**, 98 (1911). — 346. *Dieselben*, J. of biol. Chem. **11**, 347 (1912). — 347. *Dieselben*, J. of biol. Chem. **11**, 361 (1912). — 348. *Derselbe and West*, J. of biol. Chem. **31**, 649 (1917). — 349. *Lewinski, J.*, Pflügers Arch. **100**, 611 (1903). — 350. *Lieb, H.*, Z. physiol. Chem. **140**, 305 (1924). — 351. *Derselbe*, Z. physiol. Chem. **170**, 60 (1927). — 352. *Liotta*, Policlinico, Sez. prat. **1925**. — 353. *Derselbe*, Atti R. Accad. Med. Napoli **1925**. — 354. *Loewi, O.*, Arch. f. exper. Path. **48**, 410 (1902). — 355. *Derselbe*, Ther. Mh. **32**, 350 (1918). — 356. *Loewit, M.*, Pflügers Arch. **136**, 572 (1910). — 357. *Lombroso, U.*, Arch. f. exper. Path. **56**, 357 (1907). — 358. *Derselbe*, Arch. internat. Physiol. **23**, 313 (1924). — 359. *Lund, G. S. and C. G. L. Wolf*, Biochemie. J. **20**, 259 (1926). — 360. *Lyttkens, H. and J. Sandgren*, Biochem. Z. **26**, 382 (1910). — 361. *Dieselben*, Biochem. Z. **31**, 153 (1911). — 362. *Dieselben*, Biochem. Z. **36**, 261 (1911). — 363. *Lyttle, J. D. and J. E. Hearn*, J. of biol. Chem. **68**, 751 (1926).
364. *Maclean, H. and I. S. Maclean*, Lecithin and allied substances, the lipins. 2. Ed. London: Longmans 1927. — 365. *Derselbe*, J. of Physiol. **50**, 168 (1916). — 366. *Macleod, J. J. R.*, Carbohydrate Metabolism and Insulin. London: Longmans 1926. — 367. *Derselbe*, The Sugar of the Blood. University of Toronto Studies, Physiologic. Ser. **1921**, Nr 40; Physiological Rev. **1**, 211 (1921). — 368. *Derselbe*, Canad. med. Assoc. J. **1925**, Mai. — 369. *Derselbe and A. M. Wedd*, J. of biol. Chem. **15**, 497 (1913). — 370. *Maillard, L. C.*, C. r. Soc. Biol. **72**, 599 (1912). — 371. *Major, R. H. and R. C. Davis*, J. amer. med. Assoc. **1925 I**, 1798. — 372. *Manasse, P.*, Z. physiol. Chem. **20**, 478 (1895/96). — 373. *Mancini, S.*, Biochem. Z. **26**, 149 (1910). — 374. *Derselbe*, Biochem. Z. **32**, 164 (1911). — 375. *Mandel, J. A. und C. Neuberg*, Biochem. Z. **13**, 142 (1908). — 376. *Mansfeld, G.*, Pflügers Arch. **129**, 46 (1909). — 377. *Derselbe und E. Geiger*, Arch. f. exper. Path. **106**, 276 (1925). — 378. *Martens, J. M. H. A.*, Inaug.-Diss. Amsterdam 1927. — 379. *Mariland, M., F. S. Hansman and R. Robison*, Biochemie. J. **18**, 1152 (1924). — 380. *Derselbe and R. Robison*, Biochemie. J. **18**, 765 (1924). — 381. *Dieselben*, Biochem. J. **20**, 847 (1926). — 382. *Mavrakis, C.*, Arch. f. Physiol. **1904**, 94. — 383. *Mayer, A. et E. F. Terroine*, C. r. Soc. Biol. **62**, 773 (1907). Zit. nach Malys Jber. **37**, 465 (1908). — 384. *Mayer, P.*, Biochem. Z. **1**, 81 (1906). — 385. *Derselbe*, Biochem. Z. **4**, 545 (1907). — 386. *Derselbe*, Biochem. Z. **17**, 145 (1909). — 387. *Derselbe*, Biochem. Z. **50**, 362 (1913). — 388. *Derselbe*, Z. physiol. Chem. **29**, 59 (1900). — 389. *Derselbe*, Z. physiol. Chem. **32**, 518 (1901). — 390. *Meinertz, J.*, Z. physiol. Chem. **44**, 371 (1905). — 391. *Derselbe*, Z. physiol. Chem. **46**, 376 (1905). — 392. *de Meyer, J.*, Arch. internat. Physiol. **9**, 1 (1910). — 393. *Meyerhof, O. und K. Lohmann*, Biochem. Z. **171**, 381 (1926). — 394. *Michaelis, L. und P. Rona*, Biochem. Z. **14**, 476 (1908). — 395. *Miura, K.*, Z. Biol., N. F. **14**, 279 (1895). — 396. *Mohr, L.*, Z. exper. Path. u. Ther. **1**, 184 (1905). — 397. *Morel, A. et M. Bellion*, C. r. Soc. Biol. **69**, 27 (1910). — 398. *Morgulis, S. and O. Barkus*, J. of biol. Chem. **65**, 1 (1925). — 399. *Morita, S.*, Tohoku J. exper. Med. **3**, 279 (1922). — 400. *Moerner, K. A. H.*, Zbl. Physiol. **7**, 581 (1893).
- 400a. *Nagasaki, S.*, Z. physiol. Chem. **95**, 61 (1915). — 401. *Naidus, D.*, Inaug.-Diss. St. Petersburg 1903. Zit. nach Malys Jber. **33**, 103 (1904). — 402. *Needham, J.*, Biochemical J. **21**, 733 (1927). — 403. *Neubauer, O.*, Arch. f. exper. Path. **46**, 133 (1901). — 404. *Derselbe und K. Fromherz*, Z. physiol. Chem. **70**, 326 (1911). — 405. *Neuberg, C.*, Biochem. Z. **43**, 505 (1912). — 406. *Derselbe*, Biochem. Z. **13**, 304 (1908). — 407. *Derselbe*, Z. physiol. Chem. **31**, 564 (1901). — 408. *Derselbe und A. Hildesheimer*, Biochem. Z. **31**, 170 (1911). —

409. *Derselbe* und *M. Ishida*, Biochem. Z. **37**, 142 (1911). — 410. *Derselbe* und *M. Kobel*, Biochem. Z. **174**, 464 (1926). — 411. *Dieselben*, Biochem. Z. **182**, 273 (1927). — 412. *Dieselben*, Biochem. Z. **185**, 477 (1927). — 413. *Derselbe* und *J. Leibowitz*, Biochem. Z. **191**, 456 (1927). — 414. *Derselbe* und *S. Saneyoshi*, Biochem. Z. **36**, 44 (1911). — 415. *Dieselben*, Biochem. Z. **36**, 56 (1911). — 416. *Derselbe* und *E. Simon*, Biochem. Z. **171**, 1 (1927). — 416a. *Derselbe* und *H. Strauss*, Z. physiol. Chem. **36**, 227 (1902). — 416b. *Neumann*, Berl. klin. Wschr. **1904**, 1073. Zit. nach Best (29c). — 417. *v. Niel* und *Visser 't Hooft*, Ber. dtsh. chem. Ges. **58**, 1606 (1925). — 418. *Nitzescu, I. I.* et *C. Popescu-Inotesti*, C. r. Soc. Biol. **89**, 1403 (1923). — 419. *Dieselben*, C. r. Soc. Biol. **90**, 536 (1924). — 420. *Nonnenbruch, W.*, Z. exper. Med. **48**, 232 (1925).
421. *Offer, Th. R.*, Hofmeisters Beitr. **8**, 399 (1906). — 422. *Ohara, T.*, Tohoku J. exper. Med. **6**, 191 (1925). — 423. *Osborne, W. A.* and *S. Zobel*, J. of Physiol. **29**, 1 (1903). — 424. *Oser, B. L.* and *W. G. Karr*, J. of biol. Chem. **67**, 319 (1926). — 425. *Oswald, A.*, Z. physiol. Chem. **27**, 14 (1899). — 426. *Otto, J. G.*, Pflügers Arch. **35**, 467 (1885).
427. *Palmer, W. W.*, J. of biol. Chem. **30**, 79 (1917). — 428. *Palombella, A. V.*, Rinnov. med.; Gazz. Internaz. Med.-Chir. **31**. Jan. **1927**, Nr 2. — 429. *Panormoff, A.*, Z. physiol. Chem. **17**, 596 (1892). — 430. *Pascucci, O.*, Hofmeisters Beitr. **6**, 543 (1905). — 431. *Patterson, J.*, Biochemic. J. **20**, 651 (1926). — 432. *Paul, J. R.*, J. of biol. Chem. **68**, 425 (1926). — 433. *Pavy, F. W.*, Die Physiologie der Kohlenhydrate. Leipzig u. Wien: Franz Deuticke 1895. — 434. *Derselbe*, Über den Kohlenhydratstoffwechsel. Leipzig: Wilhelm Engelmann 1907. — 435. *Derselbe*, J. of Physiol. **20**, Proc. VII (1896). — 436. *Derselbe*, J. of Physiol. **24**, 479 (1899). — 437. *Derselbe* and *R. L. Siau*, J. of Physiol. **26**, 282 (1901). — 438. *Dieselben*, J. of Physiol. **27**, 457 (1902). — 439. *Pekelharing, C. A.* und *C. J. C. van Hoogenhuyze*, Z. physiol. Chem. **91**, 151 (1914). — 440. *Perlzweig, W. A.*, *E. Latham* and *C. S. Keefer*, Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **21**, 33 (1923). — 441. *Phocas, A.*, C. r. Soc. Biol. **82**, 485 (1919). — 442. *Piazza, G.*, Arch. Farmacol. sper. **1925/26**. — 443. *Pickardt, M.*, Z. physiol. Chem. **17**, 217 (1892). — 444. *Polimanti, O.*, Biochem. Z. **64**, 490 (1914). — 445. *Pollak, L.*, Arch. f. exper. Path. **125**, 102 (1927). — 446. *Pringsheim, H.*, Naturwiss. **1926**, 198. — 447. *Derselbe* und *M. Winter*, Biochem. Z. **177**, 406 (1926); Ber. dtsh. chem. Ges. **60**, 278 (1927). — 448. *Pryde, J.* and *R. W. Humphreys*, Biochemic. J. **20**, 825 (1926).
449. *Quagliariello e Gullotta*, Boll. Soc. Biol. sper. **1926**. Zit. nach Condorelli (139). — 450. *Quick, A. J.*, J. of biol. Chem. **70**, 59 (1926).
451. *Raab, W.*, Z. exper. Med. **49**, 179 (1926). — 452. *Rabinowitch, I. M.*, J. of biol. Chem. **75**, 45 (1927). — 453. *Randoin-Fandard, L.*, Thèse de Paris. Paris: Jouve et Cie. 1918. — 454. *Dieselbe* et *E. Lelesz*, Bull. Soc. de Chim. biol. **7**, 765 (1925). — 455. *Dieselben*, C. r. Acad. Sci. **180**, 1366 (1925). — 456. *Dieselbe* et *A. Michaux*, Presse méd. **1926 I**, 71. — 457. *Raper, H. S.* and *E. C. Smith*, J. of Physiol. **60**, 41 (1925). — 458. *Rapisardi*, Sicilia Sanitaria. **2**, Nr 10/11 (1924). Zit. nach Condorelli (131). — 459. *Richter-Quittner, M.*, Biochem. Z. **158**, 176 (1925). — 460. *Dieselbe*, Klin. Wschr. **1924 II**, 2365. — 461. *Riesser, O.*, Z. physiol. Chem. **161**, 149 (1926). — 462. *Riuzand, L.*, J. Pharmacie (6) **1**, 232. Zit. nach Malys Jber. **26**, 61 (1897). — 462a. *Robison, R.*, Biochemic. J. **16**, 809 (1922). — 462b. *Roche, A.* et *J. Roche*, C. r. Acad. Sci. **1927 II**, 873. — 463. *Rockwood, R.*, J. of biol. Chem. **69**, 187 (1926). — 464. *Roemann, F.* und *W. Spitzer*, Zbl. med. Wiss. **1893**, 849. Zit. nach Malys Jber. **23**, 49 (1894). — 465. *Roger, H.*, Presse méd. **1926 II**, 1249. — 466. *Derselbe, F. Rathery* et *L. Binet*, C. r. Soc. Biol. **90**, 1228 (1924). — 467. *Rohny, B.*, Biochem. Z. **192**, 1 (1928). — 468. *Rona, P.* und *K. Iwasaki*, Biochem. Z. **174**, 293 (1926). — 469. *Dieselben*, Biochem. Z. **184**, 318 (1927). — 470. *Rosenheim, O.*, Biochemic. J. **10**, 142 (1916). — 471. *Derselbe* and *Tebb, J.* of Physiol. **38**, LIV (1909). — 472. *Roubitschek, R.*, Pflügers Arch. **155**, 68 (1914). — 473. *Roux, J.*, Presse méd. **1925**, 1671. — 474. *Rusznayák, St.*, Biochem. Z. **113**, 52 (1921). — 475. *Derselbe* und *G. Hetényi*, Biochem. Z. **121**, 125 (1921).
476. *Saito, S.* und *K. Katsuyama*, Z. physiol. Chem. **32**, 231 (1901). — 477. *Sal-kowski, E.*, Zbl. med. Wiss. **1893**, Nr 52. Zit. nach Malys Jber. **23**, 324 (1894). — 478. *Salomon, G.*, Dtsch. med. Wschr. **1877**, Nr 8 u. 35. Zit. nach Malys Jber. **7**, 130 (1878). — 479. *Derselbe*, Zbl. Physiol. **6**, 512 (1892). — 480. *Schmidt, J.*, Houben-Weyls Methoden der organischen

- Chemie. 2. Aufl. **3**, 377. Leipzig: Georg Thieme 1923. — 481. *Schmiedeberg, O.*, Arch. f. exper. Path. **87**, 1, 31, 47, 74 (1920). — 482. *Schoendorff, B.*, Pflügers Arch. **99**, 191 (1903). — 483. *Schoenheimer, R.*, Z. physiol. Chem. **168**, 146 (1927). — 484. *Scott, D. A.* and *C. H. Best*, Amer. J. Physiol. **68**, 144 (1924). — 485. *Seegen, J.*, Die Zuckerbildung im Tierkörper. Berlin: August Hirschwald 1900. — 486. *Derselbe*, Gesammelte Abhandlungen über Zuckerbildung in der Leber. Berlin: August Hirschwald 1904. — 487. *Shaffer and Hartmann*, J. of biol. Chem. **45**, 365 (1921). — 488. *Shaw-Mackenzie, J. A.*, Lancet **1923 I**, 1240. — 489. *Siegfried, M.* und *H. Mark*, Z. physiol. Chem. **46**, 492 (1905). — 490. *Simon, O.*, Arch. f. exper. Path. **49**, 457 (1903). — 491. *Simonnet, H.*, Bull. Soc. de Chim. biol. **6**, 44 (1924). — 492. *Simpson, W. W.* and *J. J. R. Macleod*, Trans. roy. Soc. Canada, Sect. V, **1926**, 371. — 493. *Sjol- lema, B.*, Biochem. Z. **185**, 355 (1927). — 494. *Derselbe*, Biochem. Z. **188**, 465 (1927). — 495. *Sluiter, E.* en *J. Kok*, Nederl. Tijdschr. Geneesk. **1924 II**, 1592. — 496. *van Slyke, D. D.* and *A. Hiller*, J. of biol. Chem. **68**, 323 (1926). — 497. *Soerensen, S. P. L.* und *L. Lorber*, Ber. dtsh. chem. Ges. **60**, 999 (1927). — 498. *Somogyi, M.*, J. of biol. Chem. **70**, 599 (1926). — 499. *Derselbe*, J. of biol. Chem. **75**, 33 (1927). — 499a. *Derselbe* and *Ronzoni*, Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **1926**, 220. — 500. *Soskin, S.*, Amer. J. Physiol. **81**, 382 (1927). — 501. *Stasiak, A.*, Z. physiol. Chem. **123**, 104 (1922). — 502. *Staub, H.*, Insulin. 2. Aufl. Berlin: Julius Springer 1925. — 503. *van Steenis*, Inaug.-Diss. Utrecht 1924. — 504. *Steinberg, S.*, und *W. Elberg*, Klin. Wschr. **1925**, 2399. — 505. *Stepp, W.*, Arch. f. exper. Path. **90**, 105 (1921). — 506. *Derselbe*, Erg. Physiol. **19**, 291 (1921). — 507. *Derselbe*, Erg. Physiol. **20**, 108 (1922). — 508. *Derselbe*, Z. physiol. Chem. **97**, 213 (1916). — 509. *Derselbe*, Z. physiol. Chem. **107**, 29 (1919). — 510. *Derselbe*, Z. physiol. Chem. **107**, 264 (1919). — 511. *Derselbe*, *R. Feulgen* und *K. Voit*, Biochem. Z. **181**, 284 (1927). — 512. *Stuedel, H.*, Z. physiol. Chem. **33**, 223 (1901). — 513. *Derselbe*, Z. physiol. Chem. **34**, 353 (1901/02). — 514. *Derselbe* und *P. Brigl*, Z. physiol. Chem. **68**, 40 (1910). — 515. *Stewart, C. P.* and *H. E. Tunncliffe*, Biochemic. J. **19**, 207 (1925). — 516. *Stolnikow*, Arch. f. Physiol. **1887**, Suppl.-Bd., 1. — 517. *Supniewski, J. V.*, J. of biol. Chem. **70**, 13 (1926). — 518. *Sybrandy, B.*, Inaug.-Diss. Utrecht 1925. — 519. *Derselbe*, Nederl. Tijdschr. Geneesk. **1926 I**, 632.
520. *Thannhauser, S. J.* and *M. Jenke*, Arch. f. exper. Path. **110**, 300 (1926). — 521. *Thomas, P.*, Bull. Soc. de Chim. biol. **7**, 102 (1925). — 522. *Toscano, C.*, Policlinico, Sez. med., **1927**. — 523. *Tunncliffe, H. E.*, Biochemic. J. **19**, 194, 199 (1925).
524. *Umber, F.*, Berl. klin. Wschr. **1901**, Nr 3. Zit. nach Malys Jber. **31**, 93 (1902). — 525. *Derselbe*, Dtscher. med. Wschr. **1926 II**, 1947.
526. *Vellinger, E.*, C. r. Acad. Sci. **182**, 1625 (1926). — 527. *Virtanen, A. I.* und *H. Karstroem*, Z. physiol. Chem. **161**, 218 (1926). — 528. *Visscher, M. B.*, Amer. J. Physiol. **68**, 135 (1924). — 529. *Vogelius*, Arch. f. Physiol. **1893**, 378.
530. *Wada, H.*, Biochem. Z. **171**, 218 (1926). — 531. *Waldvogel* und *Tintemann*, Z. physiol. Chem. **47**, 129 (1906). — 532. *Walz, E.*, Z. physiol. Chem. **166**, 210 (1927). — 533. *Wertheimer, E.*, Pflügers Arch. **213**, 262, 280, 287, 298 (1926). — 534. *Derselbe*, Klin. Wschr. **1927 II**, 2261. — 535. *Wigglesworth, V. B.*, *C. E. Woodrow*, *W. Smith* und *L. B. Winter*, J. of Physiol. **57**, 447 (1923). — 536. *Winter, L. B.*, Biochemic. J. **20**, 668 (1926). — 537. *Derselbe*, Biochemic. J. **21**, 467 (1927). — 538. *Derselbe* und *W. Smith*, Nature (Lond.) **112**, 829 (1924). — 539. *Dieselben*, Proc. physiol. Soc., 17. Febr. 1923; J. of Physiol. **57**, XXXI (1923). — 540. *Dieselben* und *H. F. Holden*, Nature (Lond.) **111**, 810 (1923). — 541. *Winterstein, H.* und *E. Hirschberg*, Biochem. Z. **159**, 351 (1925). — 541a. *Wohl* und *Neuberg*, Ber. dtsh. chem. Ges. **33**, 3106 (1900). — 542. *Wohlgemuth, J.*, Z. physiol. Chem. **37**, 475 (1903).
543. *Yoshimoto, S.*, Z. physiol. Chem. **56**, 425 (1908).
544. *Zanetti, C. U.*, Gaz. chim. ital. **33 I**, 160 (1903). Zit. nach Malys Jber. **33**, 10 (1904). — 545. *Zemplen, G.*, Kohlenhydrate. Abderhaldens Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden. I **1922 V**. Berlin: Urban u. Schwarzenberg. — 546. *Derselbe*, Kohlenhydrate. Abderhaldens Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden. I **1922 V**, 77. Berlin: Urban u. Schwarzenberg.

## I. Einleitung.

Wenn man aus frischem Blut die eiweissartigen Bestandteile in irgendeiner Weise entfernt, bekommt man unter der Voraussetzung, dass bestimmte Kautelen beachtet worden sind, eine wasserklare Flüssigkeit, die mit Überschuss einer alkalischen Lösung eines Cuprisalzes erhitzt, dies teilweise reduziert zur Cuproverbindung: wieviel von der Cupriverbindung reduziert ist, kann man nach verschiedenen Methoden quantitativ bestimmen.

Hydrolysiert man dasselbe Blut vorher mit irgendeiner nicht zu konzentrierten Mineralsäure, neutralisiert dann und verfährt mit dem Hydrolysat weiter wie oben beschrieben, so findet man meistens, dass mehr Kupfersalz reduziert wird.

Diese zwei einfachen Tatsachen bilden die Grundlage für alles, das in den nächsten Seiten besprochen werden soll.

Eine einfache Sache, wird mancher denken. Zu einfach sogar. Denn diese Reduktion wird — das weiss wohl ein jeder in unseren Kreisen — hervorgerufen von Glucose, und über diesen Blutzucker ist schon soviel geschrieben worden, Jahre und Jahrzehntlang, dass wir nun wohl so ziemlich alles davon wissen. Er wird, je nach dem augenblicklichen Bedarf, in Leber und Muskeln in Glykogen umgesetzt, oder das Glykogen spaltet sich wieder in Zucker, der Zucker in Acetaldehyd bzw. Milchsäure, und schliesslich verbrennen diese zu Kohlensäure und Wasser.

Das ist die geläufige Vorstellung.

Im folgenden hoffe ich zeigen zu können, dass diese übliche Anschauung, nach der es möglich wäre, den Umfang des ganzen Kohlenhydratstoffwechsels zu berechnen aus den einerseits für den (freien) Blutzucker, andererseits für das Glykogen festgestellten Werten mit einem geringen Spielraum für ihre unmittelbaren Zwischenprodukte, vollkommen unrichtig ist.

Doch findet man diese Betrachtungsweise noch in den meisten, ja man möchte fast sagen in allen Veröffentlichungen, sogar den neuesten, die sich mit dem Kohlenhydrathaushalt beschäftigen.

Unser Interesse für dieses Teilgebiet des Kohlenhydratstoffwechsels war geweckt worden, als wir, Laqueur und ich, gelegentlich einer vorigen Publikation (237) uns genötigt sahen uns damit etwas eingehender zu beschäftigen, besonders hinsichtlich seiner Beeinflussung durch Insulin. Damals schon haben wir diesem Punkte deshalb eine unverhältnismässig grosse Arbeit gewidmet. Er hielt uns aber gefesselt, so dass ich jetzt, nachdem ich noch mehr von den weit und breit in der Literatur zerstreuten Daten gesammelt habe, nochmals eine Zusammenstellung geben will, dies um so mehr als ich die Literatur genau durchsah und dabei ausserordentlich interessante Daten fand. Viele davon bedürfen aber noch dringend einer Nachprüfung. Soweit es mir möglich war, diese selbst auszuführen, habe ich die Hauptergebnisse dieser bisher nur teilweise veröffentlichten Untersuchungen<sup>1</sup> mit im Text verarbeitet und so ein Ganzes herzustellen versucht.

Diese Übersicht ist auch für die Klinik nicht ohne Bedeutung weil, wie schon gesagt, die übliche Bilanzaufstellung des Kohlenhydratstoffwechsels durch alleinige Beziehung von freier

<sup>1</sup> Die ausführliche Publikation erfolgt an anderer Stelle.

Glucose und Glykogen sicher eine irrige ist; weiter auch dadurch, dass hier schon eine Fülle von bisher kaum beachteten pathologischen Befunden vorliegt. Es sind gerade diese zu wenig bekannten Tatsachen, die wir etwas mehr in den Vordergrund bringen möchten. Darum ist es selbstverständlich, dass im folgenden die Zunahme des reduzierenden Vermögens im Mittelpunkt unserer Aufmerksamkeit stehen wird, und wir den „freien“ „Zucker“ nur insofern besprechen werden als für das richtige Verständnis unseres eigentlichen Gegenstandes nützlich und nötig ist. Es schien mir wichtig, auch behufs anderer Forscher, einmal eine auf breiter Basis fussende Übersicht über das ganze Gebiet zu geben, dadurch, dass möglichst viel diesbezügliche Daten gesammelt und geordnet werden sollten. Doch sind wir überzeugt, hie und da noch wohl etwas übersehen zu haben; für die Mitteilung solcher Fehler wären wir sehr dankbar.

Zweifellos haben wir hier ein äusserst wichtiges Gebiet vor uns, auf dem hie und da schon wiederholt gearbeitet worden ist, aber ohne dass von Organisation oder System sich viel zeigte. Und am meisten fällt es auf, wie wenig die meisten Forscher von der Arbeit ihrer Vorgänger gewusst haben. Camidge zitiert in seinem Buche „New Views on Diabetes Mellitus“ (1923) im ganzen eine Arbeit von Freund vom Jahre 1892 und eine von Lépine und Boulud aus 1913 als dasjenige, was vor ihm vom Vorkommen eines hydrolysierbaren Kohlenhydrates im Blute bekannt war. Mme Randoïn-Fandard nennt in ihrer Dissertation (1918) nur Pavy c. s., Frank und Bretschneider und Lépine c. s. Bang widmet dem Gegenstand in seinem bekannten Buche „Der Blutzucker“ (1913) im ganzen kaum drei Seiten, Lépine in seinem „Sucre du Sang“ (1918) zitiert die Literatur kaum vollständiger. Und auch in den verschiedenen Zeitschriftartikeln fällt immer wieder aufs neue die mangelhafte Kenntnis der einschlägigen Literatur auf; nur der Name von Lépine und sein „Sucre virtuel“ spukt hier rund.

Die zahlreichen und wichtigen italienischen Untersuchungen der letzten Jahre sind ausserhalb Italien nahezu unbekannt geblieben, und auch uns selbst wären sie zum grössten Teil entgangen, wenn nicht Prof. Condorelli und seine Mitarbeiter die Liebenswürdigkeit gehabt hätten, uns eine fast vollständige Serie davon zur Verfügung zu stellen. Ihnen allen sei dafür auch an dieser Stelle nochmals Dank gebracht.

Anlässlich unserer Erfahrungen beim Durcharbeiten der sehr umfangreichen und sehr heterogenen Literatur müssen wir hier im Anfang schon die Aufmerksamkeit darauf hinlenken, dass

1. ein reduzierender Stoff noch keine Glucose zu sein braucht.
2. Ein Beweis, also auch eine chemische Identifikation, vollständig sein muss.
3. Für jeden Beweis die Anzahl der Versuche genügend gross sein soll.
4. Aus unvollständigen Daten keine bindende Schlüsse gezogen werden dürfen.
5. „Hypothesen“ und „Erklärungen“ oft zu weit gehen und dann mehr Schaden als Nutzen stiften.

6. Das „Jurare in verbo magistri“ das Schlimmste von allem ist.

Diese Bemerkungen sind ohne Zweifel banal und keineswegs neu; schon 1901 äusserte Langstein (303) dieselben Klagen, aber man kann nicht sagen, dass er viel Erfolg gehabt hat. Dies wenigstens ist unser Gesamteindruck nach Durcharbeiten auch der neueren Literatur.

Als letzte Einschränkung müssen wir noch hinzufügen:

7. Man muss alle Blutzuckerbestimmungsmethoden mit einer gewissen Zurückhaltung betrachten.

## II. Die freien reduzierenden Substanzen des Blutes.

### A. Die Methoden zur quantitativen Bestimmung des Blutzuckergehalts und ihre Unvollkommenheiten.

Es hat sich in den letzten Jahren gezeigt, dass Blutzuckerbestimmungsmethoden, die schon tausendfache Verwendung gefunden hatten und immer als ausserordentlich zuverlässig betrachtet wurden, insbesondere auf Grund der Tatsache, dass sie besonders hinzugesetzte Glucose quantitativ wiedergaben, doch mit Fehlern behaftet waren. Die Fehler bestanden darin, dass bei Verwendung von verschiedenen Methoden, die alle dieser Voraussetzung genügten, bei einem und demselben Blute in einer Serie von Bestimmungen an Blut von verschiedenen Individuen das Ergebnis der einen Methode konstant höher bzw. niedriger war als das der anderen. Die Ursache dafür muss wohl darin liegen, dass die Methode, die die höchsten Zahlen liefert, ausser Glucose noch einen oder mehrere andere reduzierende Stoffe zeigt, so dass dann die gefundene Reduktion die Summe ist von der mehrerer Komponenten.

Tatsächlich hat man einigemal Beobachtungen publiziert, die in dieser Richtung wiesen. So haben Folin und Svedberg (203) die Vermutung geäußert, dass bei der Blutzuckerbestimmung nach Folin-Wu neben der Glucose noch ein Stoff mitbestimmt wird, der keine Glucose, aber doch vergärbare ist. Ihrer Meinung nach soll es keine Maltose oder ein anderes Di- oder Polysaccharid sein; es scheint aber, dass sie sich hiervon nicht durch das negative Ergebnis einer Hydrolyse mit Säure überzeugt haben.

Man wird also schliessen müssen, dass man die Methode bevorzugen muss, die die niedrigsten Zahlen liefert, aber doch extrahinzugesetzte Glucose quantitativ anzeigt. Aber wer garantiert, dass dieser nicht noch dieselben Mängel anhaften, sei es denn auch vielleicht in geringerem Grade? Wir betonen dies, damit man verstehe, wie wertlos die quasi-exakten Berechnungen sind, die man jetzt in allerhand Veröffentlichungen über Blutzucker, Glykogenbildung, Kohlenhydratverbrennung usw. antrifft.

Doch beginnt man dies allmählich, sei es auch unter Sträuben, zuzugeben. So sagt z. B. Folin (200), dass die nach Folin-Wu erhaltenen Werte zu hoch sind „wenn man unter Blutzucker nur Blutglucose versteht“. Aber wer tut das nicht?

Nach Benedict (25) seien die Folin-Wu-Werte für Menschenblut etwa 0,22 pro mille zu hoch; für die Shaffer-Hartmann-Methode in etwas abgeänderter Form betrage diese Zahl nach Somogyi (499) sehr konstant 0,27 pro mille: davon komme der Hauptanteil auf Rechnung der Erythrocyten, denn bei diesen soll etwa 0,47 pro mille, beim Plasma hingegen nur etwa 0,10 pro mille auf Rechnung von anderen Substanzen als Glucose kommen.

Über die Methoden selber können wir kurz sein. Eine gründliche Besprechung der bis 1913 veröffentlichten findet man in Bangs bekanntem

Buche (13). Waren dies noch zum grössten Teil Makromethoden, die für jede Bestimmung viele Kubikzentimeter Blut brauchten, in den folgenden Jahren zeigte sich mehr und mehr das Bestreben, nach Bangs Vorbild Mikromethoden auszuarbeiten. War der ursprüngliche Mikro-Bang noch ziemlich umständlich und zeitraubend, allmählich gelang es, auf anderen, schnelleren Wegen zum Ziele zu kommen. So ist man jetzt imstande, in wenigen Tropfen Blut eine Bestimmung von ausreichender Genauigkeit auszuführen, und ausserdem in sehr kurzer Zeit. Doch haben nicht alle veröffentlichte Methoden der Kritik standhalten können, und es ist bisweilen nachträglich ans Licht getreten, wie voreilig sie bekanntgegeben waren, sogar von Forschern, die einen Namen zu verlieren hatten (203).

Wir wollen hier nicht alle diese Methoden ausführlich besprechen, und uns beschränken auf diejenigen Tatsachen, die zu unserem eigenen Problem in näherer Beziehung stehen. Als Hinweis genüge, dass man eine Vergleichung der Ergebnisse der neueren Methoden unter anderem finden kann bei Duggan und Scott (160), Folin (200), Hoest und Hatlehol (263), Holden (265), Last (313), Lyttle und Hearn (363), Rockwood (463), Shaffer und Hartmann (487), Stepp (507).

Hier möge nebenbei die Aufmerksamkeit hingelenkt werden auf eine ähnliche Tatsache, wie wir sie soeben schon kennzeichneten: Holden (265) fand, dass bei Insulin-Krampf-Kaninchen die Methode-Hagedorn-Jensen viel höhere Werte lieferte als die Methode-Wood-Ost. Daraus schliesst er, dass unter diesen Umständen eine beträchtliche Menge eines unbekanntem reduzierenden Stoffes zugegen sein muss, der im einen Falle wohl, im anderen nicht dem ente Weissenden Agens entgeht.

Bei der obenstehenden Aufzählung haben wir nur diejenigen Autoren erwähnt, die sich mit dem am meisten gebräuchlichen Typus der quantitativen Bestimmungsmethoden, d. h. solchen, die auf dem reduzierenden Vermögen der Zuckerklösung beruhen, beschäftigt haben: auch deshalb, weil dies eigentlich bisher das einzige Prinzip ist, das für wirkliche Mikromethoden verwendbar ist.

In unseren eigenen, später ausführlich zu besprechenden Versuchen haben wir die Bestimmung des Zuckergehalts immer ausgeführt nach der Methode von Bierry und Moquet (50), und zwar, weil diese sich uns, mit geringfügigen Änderungen, als die einzige zeigte, die sowohl in rohem als in mit Mineralsäure hydrolysiertem Blut brauchbar ist. Auch sonst war diese Wahl berechtigt. Diese Methode besteht darin, dass man das Eiweiss mit dem Mercurinitratreagens von Bierry und Portier bzw. Patein und Dufau entfernt, und dann im Filtrat eine quantitative Zuckerbestimmung nach Folin-Wu ausführt. Dies ist eine sehr glückliche Kombination. Denn es hat sich gezeigt, dass das Reagens von Patein-Dufau, von Bierry und Portier (54) in die Blutanalyse eingeführt, gründlicher als

irgend ein anderes ausser Eiweiss auch die Eiweissabbauprodukte entfernt, während demgegenüber extra-zugesetzte Glucose nahezu quantitativ (bis auf 1,13%) (53) zurückgefunden wird, vorausgesetzt, dass man sich genau an die in der ursprünglichen Vorschrift gegebenen quantitativen Verhältnisse hält und die Niederschläge nicht auswäscht (55). Auch von anderer Seite ist die Brauchbarkeit der Methode vollkommen bestätigt worden (313); nur darf man nicht allzuviel (mehr als ein Drittel des Gesamtvolumens) vom Quecksilberreagens zusetzen (498).

Was den zweiten Teil der Methode von Bierry und Moquet, und zwar die colorimetrische Glucosebestimmung nach Folin und Wu betrifft, so ist diese Wahl schon gebilligt durch die tausendfachen guten Erfahrungen, die man damit in den letzten Jahren in Klinik und Laboratorium gewonnen hat. Auch bei exakter Kontrolle zeigten sich die Ergebnisse, wenigstens im Bereich der physiologisch vorkommenden Zuckerkonzentrationen, zuverlässig (160); bei höheren Konzentrationen muss man mit einem Korrektionsfaktor rechnen (424).

Einen Nachteil hat aber die Kombination der Mercurinitratmethode mit der von Folin-Wu: es blasst die zum Schluss erhaltene blaue Farbe oft viel schneller ab als beim ursprünglichen Folin-Wu, so dass man genötigt ist, sehr schnell zu arbeiten, und dann noch Minimumwerte erhält. Diesem Abblässen der Farbe kann man aber dadurch vorbeugen, dass man, wie Harned (252) empfahl, dem enteiweissten Filtrat sowohl wie der Standardzuckerlösung so viel Kaliumbisulfatpulver zusetzt, dass die Flüssigkeit mit Tropäolin-00 gerade die Umschlagsfarbe gibt. In dieser Weise soll man extra zugesetzte Glucose quantitativ wiederfinden können. Für weitere technische Einzelheiten sei auf das Original verwiesen, da Harneds Methode der Mercurinitratverwendung ziemlich stark von der Bierryschen abweicht. Übrigens ist das genaue Einstellen auf das richtige  $p_H$  vom höchsten Gewicht, aber bisher nur von ganz wenigen Autoren (498) genügend beachtet worden. Kleine Unterschiede sollen beträchtliche Abweichungen im Endergebnis verursachen können.

Auf nähere Einzelheiten der Methode Bierry-Moquet kommen wir weiter unten noch zurück. An dieser Stelle wollen wir aber noch darauf hinweisen, dass auch bei dieser gewissermassen automatisch eine Einstellung auf ein bestimmtes  $p_H$  stattfindet, und zwar dadurch, dass man nach dem Enteiweissen bis zur schwachsauren Reaktion neutralisiert, und diese ganz schwachsaure Lösung dann stundenlang mit metallischem Kupfer zwecks Entfernung der Quecksilberreste in Berührung lässt.

Eine zweite Unannehmlichkeit ist oft die Missfarbenheit des bei der Reduktion sich bildenden Kupferoxyduls, das, besonders bei Hydrolysaten, oft statt orangerot braun oder schmutziggrün ist, bisweilen sogar sich gar nicht in makroskopischen Partikeln absetzt und in kolloidaler Lösung bleibt.

Man hat dann das unangenehme Gefühl, seinen Analysen nicht vollkommen trauen zu können. Nach Folin und Svedberg (203) kann man die Stoffe, die diese Störung verursachen, dadurch entfernen, dass man die zuckerhaltige Lösung 2—3 Minuten schüttelt mit Permutit, etwa 2 g pro 20 ccm Flüssigkeit. Bissinger und Lesser (75) erreichten dasselbe dadurch, dass sie die Flüssigkeit nochmals behandelten mit einer kleinen Menge einer 5%igen Lösung von Phosphorwolframsäure in 2%iger Salzsäure: dann kann man nach ihnen im Filtrat sofort, ohne den Überschuss des Reagens zu entfernen, die quantitative Bestimmung des reduzierten Kupfers nach Bertrand ausführen (hier handelt es sich also um eine Makromethode). Diese Extraverarbeitungen, die leicht Verluste herbeiführen können, sind aber überflüssig, wenn man die zu Oxydul reduzierte Menge Kupfer mit dem Molybdänreagens von Folin-Wu colorimetrisch bestimmt: dabei entsteht eine rein blaue Farbe, deren Intensität dem Maasse der Reduktion proportional ist, unabhängig davon, ob das Oxydul sich in makroskopischen Partikeln abgeschieden hat oder in (eventuell kolloidaler) Lösung geblieben ist. Nur Ammonsalze scheinen unter gewissen Umständen eine Bestimmung ganz verderben zu können.

## **B. Die Identifikation des freien reduzierenden Zuckers des Blutes.**

Aus welchen Gründen nimmt man nun an, dass die reduzierende Substanz tatsächlich Glucose ist?

Bevor wir zu unserem eigentlichen Thema, dem „gebundenen Zucker“ des Blutes, übergehen, müssen wir ganz kurz, mit Rücksicht auf die in der Literatur weit und breit zerstreuten Daten, sehen, ob der meistens mit Reduktionsmethoden bestimmte „freie“ Blut„zucker“ die beiden zwischen Anführungsstrichen gestellten Bezeichnungen vollständig verdient, und, wenn dies der Fall, ob tatsächlich Glucose vorliegt. Selbstverständlich meinen wir hier ausschliesslich die im Blute normaler nichtdiabetischer Individuen (entweder Menschen oder Tiere) vorkommende reduzierende Substanz.

Erstens wollen wir die Frage erörtern, ob tatsächlich Glucose vorliegt. [S. auch Bang (13, S. 4 usw.) und Otto (426)].

Schon 1848 hatte Claude Bernard (zit. nach 453 S. 23) das Eiweiss aus Blut entfernt, und gefunden, dass das Filtrat:

1. die alkalische Lösung eines Cuprisalzes reduzierte zu orangerotem Kupferoxydul;

2. beim Kochen mit Alkali zuerst gelb, dann hellbraun und schliesslich tiefbraun wurde;

3. vergärbar war. [Nach Lépine (323, S. 4) wäre Chauveau 1857 der Erste gewesen, der dies demonstriert hat.] Später hat man diese Vergärbarkeit noch wiederholt bestätigen können: sie kommt sogar bei einigen neueren Blutzuckerbestimmungsmethoden zur praktischen Verwendung. Die dabei ans

Licht getretenen konstanten Unterschiede mit dem Ergebnis der Reduktionsmethoden besprechen wir später (S. 22). Saito (476) konnte zeigen, dass bei dieser Vergärung tatsächlich Kohlensäure und Alkohol entstehen.

Später fand Bernard (zit. nach 323, S. 13 und 453, S. 24),

4. dass das Blut einen optisch rechtsdrehenden Extrakt lieferte.

Auch dies ist nachher wiederholt bestätigt worden, aber auch hier traten mehr oder weniger konstante Differenzen mit dem Ergebnis der Reduktionsmethoden zu Tage.

5. Man hat aus Blut von allerhand Tierarten ohne vorherige saure Hydrolyse (wenigstens insofern das saure Phenylhydrazinreagens nicht schon eine solche bewirkte!) ein Osazon von den für Phenylglucosazon charakteristischen Eigenschaften herstellen können, d. h. es entstand ein Produkt von typischer Form und Farbe, das bei 204—205° C schmolz. Dies gelang v. Jaksch (281, Mensch), Kay (265, Kaninchen), Kuelz (zit. nach 395, Rind), Macleod (366, S. 197, niedere Tiere), Miura (395, Mensch, Rind), Pickardt (443, Rind, Hund), Saito und Katsuyama (476, Huhn). Weiter unten kommen wir auf diesen Gegenstand noch näher zurück.

6. Hanriot (251) gelang es, aus Pferdeblut Parachloralose (Schmelzpunkt 227°) herzustellen.

7. Es zeigte sich, dass der betreffende Stoff nicht durch Salzsäure zerlegbar war: nach Hydrolyse war sein reduzierendes Vermögen nicht erhöht, es lag also keine polymere Substanz vor (Bernard, zit. nach 453, S. 27 und 433, S. 154).

8. Die Substanz wurde zerstört durch Kochen mit Ammoniak [Cooper und Walker (143)].

9. Sie ist in Äther unlöslich [Cooper und Walker (143)].

Dies alles zusammen bildet gewiss einen ziemlich deutlichen Hinweis, dass tatsächlich ein Zucker, und zwar im besonderen Glucose, vorliegt. Aber einen vollständigen Beweis bildet es noch nicht, denn:

a) Bisher hat man die Substanz nur einmal (1898) als solche isoliert, und zwar gelang dies Hédon (256) und Hanriot (251); letzterer erhielt aus 30 l Pferdeblut etwa 6 g von einem Stoff, der durch Lösen in Alkohol und fraktionierte Fällung mit Äther gereinigt werden konnte, bis er ganz stickstofffrei und nahezu aschefrei war. Aber auch dann noch war die optische Rechtsdrehung beträchtlich schwächer, das Reduktionsvermögen hingegen stärker als die einer gleichen Menge Glucose. Auch Seegen und Ludwig (485, S. 98; 486 S. 134) versuchten zu einer näheren Identifikation zu kommen: zu diesem Zweck aber wurde Rinderblut lange Zeit mit Essigsäure gekocht, so dass eine schwache Hydrolyse von komplexen Zuckerverbindungen möglich und im Lichte der späteren Untersuchungen sogar sehr wahrscheinlich wurde. Vom Endprodukte aber stimmten in diesem Falle reduzierendes Vermögen, optische Rotation und Vergärung gut mit denen von Glucose

überein. Aber die Hauptsache hat man versäumt: noch nie hat man eine Elementaranalyse ausgeführt, noch nie hat man die Grösse der Moleküle bestimmt!

b) Noch keinem Forscher ist es bisher gelungen, aus dem „Blutzucker“ eine deutlich identifizierbare Menge Zuckersäure herzustellen, ohne deren Herstellung keine Glucoseidentifikation vollständig ist [Zemplan und Nord (546), S. 77].

c) Noch keiner hat am isolierten Blutzucker bisher die für Glucose charakteristischen Mutarotationserscheinungen zeigen können, und ebenso wenig hat man z. B. versucht,

d) aus der Lösung in Pyridin die  $\beta$ -Modifikation herzustellen.

Wir werden die wichtigsten der oben aufgeführten sogenannten Beweise nochmals etwas näher betrachten müssen.

**1. Das reduzierende Vermögen.** Wie allgemein bekannt, ist dies eine Eigenschaft, welche ausser Glucose zahllose andere Substanzen besitzen. Viele von diesen kommen, wie man meint, auch im Blute mehr oder weniger regelmäßig vor, machen alle zusammen sogar einen ziemlich beträchtlichen Teil der Gesamtreaktion aus, der unter gewissen Umständen sogar abnorm gross werden kann. Deshalb geben wir untenstehend eine kurze Aufzählung von den wichtigsten dieser Stoffe; wir beanspruchen aber keineswegs Vollständigkeit.

**Fruktose.** Lépine betrachtet als charakteristisch hierfür, dass die Lösung dieses Zuckers nach zweistündigem Erwärmen auf 100° mit 7% HCl eine Zunahme des rechtsdrehenden Vermögens neben Abnahme des reduzierenden Vermögens zeigt, zweitens, dass bei Behandlung mit alkoholischem Essigäther feine Nadelchen von Calciumlävulosat auskrystallisieren, und drittens, dass die Seliwanoffsche Reaktion positiv sei. Diese Tatsachen sollen von seinem Mitarbeiter Boulud einigemal, aber keineswegs oft, in Blutextrakten beobachtet worden sein (323, S. 16).

Als bald haben Neuberg und Strauss (416a) diese Angaben, die i. E. auf mit ungenügender Technik erhaltenen Ergebnissen beruhten, mit anderer Methodik nachgeprüft, besonders mit Hilfe des Methylphenylhydrazinverfahrens, dessen richtige Handhabung sie ausführlich mitteilen. Nach Fructoseverabreichung per os war der Zucker in dieser Weise bequem in Blut und Ascitesflüssigkeit nachzuweisen; das Wichtigste aber ist, dass es bei einem Patienten mit multiplen Lymphomen mehrmals gelang, aus der Pleuraflüssigkeit beträchtliche Mengen des Fructosemethylphenylosazons zu isolieren, ohne dass ihm vorher Fruchtzucker gegeben worden war. Blut (Serum) wurde leider nur einmal untersucht bei einem Patienten, der zuvor diesen Zucker erhalten hatte; über das etwaige Vorkommen auch im Normalblut besagen diese Versuche also nichts. Weiter erinnern wir daran, dass Lävulosurie eine klinisch wohlbekanntere, wenn auch seltene Erscheinung ist; meistens handelt es sich zwar um Pseudolävulosurie (s. weiter unten), aber

daneben kommt auch echte Lävulosurie vor [Camidge und Howard (112, S. 159)]. Man kann also die Möglichkeit nicht in Abrede stellen, dass wenigstens in solchen Fällen die ausgeschiedene Fructose zuvor frei im Blute zirkuliert hat.

Galaktose. Diesen Zucker hat man vereinzelt im Blute angetroffen nach übermäßigem Genuss von Milchzucker per os, und in anderen Fällen bei Individuen mit kranker Leber [Lépine (323, S. 19)].

Maltose. Diese Biose reduziert etwas weniger stark als Glucose, dreht hingegen viel stärker nach rechts; durch Erwärmen mit Säure steigt das Reduktionsvermögen und sinkt die Rotation ab. Maltosazonkrystalle haben bei Bestimmung mit dem Bloc-Maquetten einen Schmelzpunkt von 196 bis 198° gegen Glucosazon 230—232°. Auf Grund dieser Charakteristica meinte Boulud im Blute von Hunden und Menschen wiederholt Maltose gefunden zu haben [Lépine (323, S. 17); Lépine und Boulud (336)]. Doch handelt es sich hier in normalen Fällen, insofern nicht eine kohlenhydratreiche Mahlzeit der Untersuchung unmittelbar voranging, wahrscheinlich nur um winzige Mengen; das zeigen die Ergebnisse mehrerer Autoren an mit Salzen von schweren Metallen (Uran, Quecksilber) enteiweisstem Blut. Solches Blut sollte die Biosen noch enthalten; in Wirklichkeit aber zeigt es bei Hydrolyse nur einen Reduktionszuwachs, übereinstimmend mit 0,00—0,03 pro mille Glucose [Caltabiano (105)]. Doch hat man Methoden ausgearbeitet, die eine quantitative Bestimmung gestatten, speziell für Fälle, wo der Zucker künstlich zugeführt war. Wir nennen die von Sjollem (493), begründet auf der Tatsache, dass Carbo medicinalis Merck aus 1/2% Essigsäure enthaltenden Lösungen wohl Biosen, aber keine Glucose adsorbiert, und die von Condorelli (140), bei der mit Uranyl nitrat das Eiweiß und der übrige „gebundene Zucker“ entfernt werden und nur Monosen und Biosen in Lösung bleiben. Diese Angaben mögen genügen, da einigermaßen bedeutende Werte, wie gesagt, nur erhalten werden, wenn man die Biosen parenteral zuführt; dies gehört mehr in eine Besprechung der Kohlenhydratverbrennung im allgemeinen als in unsere jetzige Diskussion der natürlich vorkommenden komplexen Zucker.

Isomaltose s. S. 77.

Lactose. Diese Biose kommt, wie es scheint, regelmäßig im Blute vor. Zuerst ist sie nur bei stillenden Frauen und Säuglingen aufgefunden worden [Lépine (323 S. 17)]. Später gelang es Best (29a), mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit darzutun, dass Lactose ein normaler Blutbestandteil ist. Für Einzelheiten sei auf S. 94 verwiesen.

Pentosen, aus der Nahrung stammend oder entstanden bei einer Stoffwechselanomalie, begegnet man dann und wann, ebenso wie andere Zuckerarten derselben Herkunft, z. B. die nichtreduzierende Saccharose [Camidge (112 S. 160, 164, 165, 475); Lépine (323 S. 19)]; die Pentosen reduzieren auffällig träge. Bisweilen ist schon in nicht eingeeignetem Blutserum

eine positive Pentosenreaktion nach Bial zu erhalten, die aber auch von gebundenen Pentosen geliefert werden kann (112, S. 250). Doch scheint auch in diesen Fällen die Identifikation, rein chemisch betrachtet, überaus fraglich.

Glykuronsäure scheint ein normaler Blutbestandteil zu sein, wenn sie auch wahrscheinlich nur zum kleinsten Teile oder gar nicht frei vorkommt. Über ihre Identifikation können wir hier kurz sein; es sei auf das weiter S. 91 Gesagte verwiesen.

Die Formel der Glykuronsäure ist:



Daneben müssen wir die Isoglykuronsäure (Pseudolävulose)



erwähnen, ein bisher ziemlich unbekannter Stoff, dessen Vorkommen in Blut bisher noch nie gezeigt worden ist, der aber nach Cammidge und Howard sich in vielen Fällen von sog. Lävulosurie im Harn vorfinden soll. Damit bestätigten diese Autoren frühere Befunde von Kuelz u. a. Klinisch ist die Pseudolävulosurie bisher erkannt worden bei gesunden alten Leuten, weiter bei Menschen, die, wie in Kriegszeit, ungewöhnliche oder einseitige Nahrung bekommen, insbesondere wenn diese viel Eiweiss enthält, und besonders bei Individuen mit einer in irgendeiner Weise beeinträchtigten Leberfunktion (112, S. 159 u. 252). Wie gesagt, hat Cammidge bisher nur das Vorkommen im Harn studiert; vielleicht kommt die Substanz aber auch im Blute vor. Deshalb haben wir sie hier erwähnt. Für ihre weitere Identifikation s. das betreffende Kapitel (S. 92), wohin wir sie wegen der Möglichkeit, dass sie auch in gebundenem Zustande vorkommt, eingereiht haben.

Als weitere wahrscheinlich noch im Blut vorkommende, reduzierende Substanzen nennen wir

Dextrine [Lépine (323) S. 21]. S. weiter unten S. 112.

Hexosephosphate. S. weiter unten S. 130.

Jecorin [Roux (473)]. S. weiter unten S. 156.

Acetaldehyd, Glycerinaldehyd, Dioxyaceton, Aceton und andere, zum Teil flüchtige, aldehydartige Stoffe, die alle z. B. ammoniakalische Silberlösung schon in der Kälte reduzieren [Stepp (505, 507, 509); Macleod (366 S. 183); Roux (473)]. Supniewski (517) hat dies weiter untersucht, im Zusammenhang mit dem Acetaldehydgehalt der Organe. Er kam unter anderem zum Schluss, dass, wenn man Insulin zusammen mit Glucose (oder Fructose) gibt, die Menge Acetaldehyd im Blute viel stärker zunimmt, als nach der gleichen Menge Zucker allein. Alkohol steigert an sich schon den Blutacetaldehyd, aber auch hier ist die Steigerung noch doppelt so gross, wenn man zugleich Insulin einspritzt. (Alles an Kaninchen festgestellt, nur wenige Versuche!). Gee (223) fand mit seinen Mitarbeitern in normalem Hundeblood einen Acetaldehydgehalt von 0,002—0,006 pro mille; Pankreasexstirpation bewirkte kaum eine Änderung.

Dioxyaceton kommt gleichfalls vielleicht in normalem Blut vor; Kermack c. s. (288) fanden wenigstens eine spezifische (?) Farbenreaktion, übereinstimmend mit einem normalen Gehalt von nicht weniger als etwa 0,65 pro

mille beim Menschen, bei der Katze und beim Kaninchen. Die wässrige Lösung von Dioxyaceton reduziert Fehlingsche Lösung schon in der Kälte. Hinsichtlich weiterer diesbezüglicher Daten vgl. S. 144.

Kreatinin [Otto (426), Macleod (366 S. 183, 367 S. 210), Guggenheim (243 S. 167)]. Normales Blut enthält von dieser Substanz nach Feigl (184) 0,01—0,02 pro mille; dabei reduzieren 4 Mole Kreatinin etwa ebenso stark wie 2 Mole Glucose, nach anderen Autoren 100 Teile Kreatinin etwa ebenso stark wie 93,4 Teile Glucose.

Kreatin [s. auch Guggenheim (243 S. 167)] kommt im Blute nach Feigl (184) zu einem Betrage von 0,05—0,10 pro mille vor; es reduziert aber nur nach lange fortgesetztem Kochen.

Harnsäure und andere Purinderivate. Von diesen kommt im Blute normal 0,007—0,040 pro mille vor [Feigl (184)]; Flatow (199) meint, dass der Gehalt in Wirklichkeit fünf- bis zehnmal höher ist als man gewöhnlich annimmt. (Vgl. Hunter and Eagles: J. of biol. Chem. 65, 623, 1925!). Die Harnsäure reduziert nur unter bestimmten Umständen und quantitativen Verhältnissen; dabei stimmt die Reduktionskraft von 100 g etwa mit der von 54,3 g Glucose überein [Feigl (l. c.)].

Aminosäuren. Normaler Gehalt im Blute 0,04—0,15 pro mille [Feigl (184)].

Adrenalin [Friend (214)].

Urochrom [Mayer (387)].

Glutathion. S. später S. 186.

Ergothionein (Sympektothion, Thiasin, Thiohistidinbetain). Nach Sjollemma (494) ist dieser Stoff mit verantwortlich für die Unstimmigkeiten, die zur Annahme der Neo- oder  $\gamma$ -Glucose geführt haben. Er komme fast ausschliesslich in den Erythrocyten vor und werde bei der Fällung des Eiweisses nach Folin-Wu nicht mitgerissen, sondern bleibe im Filtrat. Der Gehalt im Blute betrage nach Hunter (271) beim Menschen etwa 0,04‰, beim Schweine dagegen etwa 0,27‰.

Eine bisulfitartige Substanz [Roux (473)].

Für viele dieser Substanzen sind Dauer und Temperatur der Erhitzung, und vor allem das  $p_H$ , von der grössten Wichtigkeit für das Endergebnis der Bestimmung des reduzierenden Vermögens [Feigl (184)]. Der genannte Autor berechnet, dass, wenn in normalem Blut pro 100 ccm 4 mg Harnsäure, 2 mg Kreatinin und 8 mg Kreatin vorkommen, dies übereinstimmt mit 2 + 1,5 + 5 oder 8,5 mg Glucose, d. h. im Mittel etwa 10‰ des „freien Zucker“wertes. Unter bestimmten Umständen kann dies seines Erachtens auf etwa 20‰ maximal steigen. Nach Stepp aber beträgt die durch andere Stoffe als Glucose hervorgerufene „Restreduktion“ normal schon 20—30‰ des Gesamtreduktionsvermögens und kann sogar auf 50‰ steigen. Bigwood c. s. (69) meinen, dass die Restreduktion beim Enteiweissen mit Zinkhydroxyd nach

Hagedorn-Jensen bei Kaninchen, Menschen und Hunden im Mittel nur etwa 14% betrage.

Wie dem auch sei, der Leser wird jetzt wohl überzeugt sein, dass das Reduktionsvermögen des Blutes keineswegs als Beweis gelten darf, dass dieses von Glucose herrührt.

**2. Die Farbveränderungen beim Behandeln mit Alkalien** können tatsächlich auf Caramelisation eines Kohlenhydrates beruhen, aber an sich sind sie auch wieder nichts weniger als beweisend.

**3. Die Vergärbarkeit** hat ebensowenig die entscheidende Bedeutung, die man ihr früher beigemessen hat. Erstens hat sich gezeigt, dass Vergärung im engeren Sinne des Wortes, d. h. Umsetzung in Kohlensäure und Alkohol unter Einfluss einer Reinkultur von Saccharomyceszellen, ausser bei Glucose auch möglich ist bei den Dextroformen von Mannose, Galaktose, Fructose, bei der optisch-inaktiven Akrose (d.-l.-Fructose), bei einer aus Mannose synthetisch hergestellten Nonose, bei Isoglykuronsäure (Pseudolävulose), bei den Kalium- und Natriumsalzen von Brenztraubensäure, Milchsäure und Glycerinsäure, und auch bei Brenztraubensäure selbst [Armstrong (5 S. 171, 173), Cammidge (112 S. 154), Neuberg und Hildesheimer (408), Neuberg und Simon (416)]; auch die Triosen Dioxyaceton und Glycerinaldehyd sind, wenn auch schwer, vergärbar (23). Weiter findet man als vergärbar erwähnt: Oxalessigsäure, Buttersäure, Glycerinphosphorsäure und sogar Substanzen wie Cystin, Phenylaminoessigsäure und p.-Oxyphenylbrenztraubensäure; beide letztere aber nur dann wenn daneben Zucker mitvergärt [Neubauer und Fromherz (404), Neuberg und Hildesheimer (408)]. Nicht alle Heferasen sind aber zu solchen Versuchen geeignet.

Auch scheinbare Vergärung kann auftreten. So haben van Niel c. s. (417) die Aufmerksamkeit darauf hingelenkt, dass gewöhnliche Hefe meistens Milchsäurebacillen enthält, durch die auch Pentosen vergären können.

Insofern man aus der Abnahme des reduzierenden Vermögens nach Vergärung geschlossen hat, wie viel Zucker vergärbar war, scheint es nicht überflüssig nochmals die Warnungen von Mayer (387) und von Macleod (367) zu wiederholen. Einerseits kann die Hefe selbst reduzierende Substanzen enthalten oder produzieren, andererseits besteht die Möglichkeit, dass sie die nichtvergärbaren reduzierenden Stoffe in nichtreduzierende umsetzt; ausserdem gibt sie immer optisch-aktive Substanzen an die umgebende Flüssigkeit ab. Bigwood und Wuillot (69) aber zeigten, dass man dies alles vermeiden kann dadurch, dass man die Vergärungszeit sehr kurz wählt, was bei verdünnten Zuckerlösungen ohne Schaden möglich ist.

Die modernen Modifikationen der Vergärungsmethoden scheinen tatsächlich quantitativ verwertbare Ergebnisse zu liefern [Ege (165, 166), Hiller, Linder und van Slyke (262, 496), Stepp (505, 507), Benedict (25), Somogyi (499)].

Nach Stepp stimmen Polarisations- und Vergärungswerte sowohl bei Gesunden als bei Diabetikern und Nephritikern untereinander auffallend gut überein (bestimmt im mittels Wolframat enteweißten, vor Licht geschützt aufbewahrten Blutfiltrate).

Auch Benedict (25) kam vor kurzem auf Grund der Analyse 40 normaler Menschenblutproben zum Ergebnis, dass darin neben Glucose keine anderen vergärbaren Zuckerarten vorkommen.

Demgegenüber ist der von den beiden genannten Methoden angegebene Zuckerwert bei Blutfiltraten immer beträchtlich niedriger als mit dem reduzierenden Vermögen übereinstimmt, so dass die beiden erstgenannten Werte nur 50—85% des Reduktionswertes ausmachen. Dies ist ein neuer Beweis dafür, dass, wie wir soeben schon betonten, tatsächlich neben Glucose noch andere Substanzen einen beträchtlichen Teil des Gesamtreduktionsvermögens auf ihre Rechnung nehmen („Restreduktion“), Substanzen, die entweder optisch inaktiv oder linksdrehend sind, speziell bei pathologischen Zuständen (509). Diese Unstimmigkeiten zwischen den Ergebnissen der verschiedenen Bestimmungsmethoden bringen uns wiederum auf das Gebiet der Neo- oder  $\gamma$ -Glucose, das wir weiter unten noch etwas eingehender besprechen wollen (s. S. 22).

Lund und Wolf (359) fanden in Übereinstimmung mit den obenerwähnten Befunden, dass die Vergärungswerte bei Nephritikern 39—50% des Reduktionswertes betragen, bei Normalen 51—59%, bei Diabetikern 40—85%. Insbesondere wenn der „Blutzucker“ niedrig ist, soll nach ihnen die Differenz zwischen Vergärungs- und Reduktionsmethoden 30—40(—50)% betragen [s. weiter Ege und van Slyke (l. c.)]. Auch Somogyi (499) bestätigt, dass bei starker Stickstoffretention die Restreduktion steigt.

Über die Verhältnisse bei Insulinkrämpfen gehen die Meinungen noch auseinander; während nach Hiller c. s. (262) und Winter und Smith der echte Blutzucker dann oft auf Null herabsinkt und die gefundene Reduktion lauter Restreduktion ist, ist nach Ernst und Forster (177) unter diesen Umständen das gegenteilige Verhalten noch nahezu normal und beträgt der „echte“ Zucker nach den Polarimeterwerten 51—76% des Gesamtreduktionswertes.

Nach Mayer (389) ist sowohl in Kaninchen- und Rinder- als in Menschenblut, wenn man das Eiweiss daraus entfernt und dann das Filtrat vollkommen vergären lässt, die Phloroglucinprobe (und bei genügender Konzentration auch die Orcinprobe) noch positiv (s. Kapitel Identifikation S. 82). Die Lösung hat dann noch reduzierendes Vermögen und ist optisch linksdrehend, aber nach Erhitzen während einer Stunde mit 1%  $H_2SO_4$  wird die Rotation gleich Null oder geht sogar in eine schwache Rechtsdrehung über. Seines Erachtens kann es sich doch wohl um Glykuronsäureverbindungen handeln in diesem Falle, weil die Mineralsäure diese nach ihrer Abspaltung auch weiter

abbaut unter Bildung von Furfurol. Liess er die Vergärung zu lange andauern, dann verschwanden schliesslich auch die die Farbreaktionen liefernden Stoffe; es scheint aber fraglich, ob diese dann noch verspätet vergoren oder durch auftretendes Bakterienwachstum zersetzt waren.

Lyttkens und Sandgren glaubten, dass es insbesondere der aus den Erythrocyten abstammende reduzierende Stoff sei, der unvergärbar ist (361, 362); ihre Zahlen für den normalen Blutzuckergehalt sind aber so abweichend, dass wir sie nicht wiederzugeben brauchen; ohne Zweifel hat ihre Methodik Fehler gehabt. Doch ist der Befund betreffs der Erythrocyten später, wie wir schon im Anfang gesehen haben, von Somogyi (499) bestätigt worden.

**4. Das Vermögen, die Ebene des polarisierten Lichts zu drehen.** Diese Eigenschaft ist zuerst an eiweissfreien Blutfiltraten festgestellt worden von Kuelz (299), der eine Rotation fand übereinstimmend mit nicht weniger als 8,0 pro mille (!) Glucose in normalem Kälberblut. Ein Jahr zuvor hatte schon Ewald (zit. nach Kuelz) die Tatsache der Rechtsdrehung in Menschenblut qualitativ festgestellt. Spätere Forscher fanden beträchtlich niedrigere Werte, mehr in Übereinstimmung mit den aus dem reduzierenden Vermögen berechneten. Das Auffallende ist aber, dass eine vollständige Übereinstimmung fast nie erreicht wurde. Schon 1898 wies Hédon darauf hin, dass die optische Rotation eines Hundebutextraktes, auf Glucose umgerechnet, nur die Hälfte der Menge Glucose zeigt, die aus dem Reduktionswerte berechnet wurde. Daraus glaubte er schliessen zu können, dass entweder der Blutzucker keine gewöhnliche Glucose war, oder dass sie ein Gemisch sei von verschiedenen Zuckern mit entgegengesetzter Rotationsrichtung (256). Barrenscheen (19) bestätigte, dass bei normalen Individuen der Polarisationswert immer niedriger ist als der Reduktionswert; nach Glucoseverabreichung aber überstieg der erstgenannte Wert den zweiten beträchtlich.

Ausserdem nähern sich, nach der Behauptung mehrerer Autoren, die Werte mit der Zeit wieder, ebenso wie durch Änderung des  $p_H$  (3). Insbesondere die letztgenannte Beobachtung war es, die sie zur Annahme veranlasste, dass die unter physiologischen Umständen vorkommende Glucose nicht das gewöhnliche  $\alpha$ - $\beta$ -Gleichgewichtsgemisch, sondern eine hypothetische dritte Modifikation,  $\gamma$ -Glucose oder Neoglucose, sein sollte (Winter und Smith, Lundsgaard und Holboell).

An dieser Stelle wollen wir hierauf nicht näher eingehen, da der Streit noch im Gange ist, von Zeit zu Zeit in verschiedenen Zeitschriften gute Zusammenfassungen erscheinen, die den augenblicklichen Stand des Problems wiedergeben, die Frage in ihrem heutigen Stadium unser eigenes Problem kaum berührt, und wir selbst nicht zu einer selbständigen Beurteilung fähig sind. Nur möchten wir darauf hinweisen, dass bei systematischer Ausschaltung aller in Frage kommenden Fehlerquellen sich gezeigt hat, dass die Sache so äusserst kompliziert ist, dass es sicher nicht erlaubt ist, aus den Ergebnissen, erhalten an einem einfach enteweissten oder dialysierten Präparate, so weitgehende Schlüsse über die Natur des physiologisch vorkommenden Blut- bzw. Organzuckers zu ziehen wie die genannten Autoren taten. Denn dann müsste man absolute Sicherheit haben, dass alle übrigen in Betracht kommenden, links- oder schwach rechts-

drehenden oder optisch inaktiven reduzierenden und nichtreduzierenden Substanzen vollkommen entfernt waren; dies leistet kein einziges der von den genannten Autoren verwendeten Reinigungsverfahren. Ausserdem hat noch keiner von den Forschern, die diese Versuche nachgeprüft haben, Ergebnisse erhalten, die nicht aus Nebenumständen zu erklären waren. So erkannte z. B. Paul (432) Milchsäure als eine von den Schuldigen, Visscher (528) das  $p_H$  usw. Ferner hat sich gezeigt, dass die für Änderung des  $p_H$  empfindliche Substanz noch in den Filtraten anwesend war, wenn alle Kohlenhydrate daraus mittels des Kupfer-Kalk-Verfahrens entfernt waren; sie besass nur ein sehr geringes reduzierendes Vermögen (3).

Schließlich erinnern wir an die hier und da in den vorangehenden und folgenden Seiten angeführten diesbezüglichen Daten (s. S. 45, 91, 97, 186).

**5. Das Osazon.** Wie wir schon referiert haben, ist von mehreren Autoren aus Blut von verschiedenen Tierspezies ihrer Behauptung nach Phenylglucosazon hergestellt worden. Hier müssen wir aber sofort bemerken, dass der chemische Nachweis, dass es sich tatsächlich um ein Osazon handelt, von keinem von ihnen geliefert worden ist. Besser tut man also wenn man vorläufig statt „Osazon“ nur „krystallisierte Phenylhydrazinverbindung“ liest. Die vier Kriterien, worauf die Autoren meistens ihre Identifikation derselben als Phenylglucosazon gründen, sind: die Krystallform, die Farbe, der Schmelzpunkt und die Unlöslichkeit in Wasser.

Die Form der Krystalle ist tatsächlich ziemlich charakteristisch, aber doch nicht so, dass man ihr mehr als elementare Bedeutung zusprechen kann.

Die Farbe ist noch weniger spezifisch; es gibt zahlreiche gelbe Phenylhydrazinverbindungen.

Dem Schmelzpunkt hat man im allgemeinen einen viel zu hohen Wert beigemessen. Erstens haben geringe Mengen Verunreinigung grossen Einfluss auf den gefundenen Wert. Und fast noch grösser ist der Einfluss der für die Bestimmung verwendeten Methodik: Emil Fischer [zit. nach Armstrong (5) S. 64] konnte bei chemisch reinem Phenylglucosazon den Schmelzpunkt beliebig variieren lassen zwischen 195 und 213°! Merkwürdigerweise findet man in der Literatur immer zwei Werte angegeben: in der deutschen 205°, in der französischen 232°, ohne dass irgendwo ein Wort zur Erläuterung dieser merkwürdigen Unstimmigkeit zu finden ist! Auch Fachchemiker konnten uns keine Antwort verschaffen, bis Cammidge uns mitteilte, dass die Capillarmethode den Wert 205°, das in Frankreich übliche Bloc-Maquette hingegen 232° liefert. Wie wenig Wert haben dann die üblichen Angaben ohne Angabe der Methode! Eine weitere Schwierigkeit bei Verwendung der Osazonmethode ist, dass in der Umgebung von 205° die Schmelzpunkte mehrerer Osazone liegen. Darum ist es notwendig, immer auch den Mischschmelzpunkt zu bestimmen, d. h. das fragliche Osazon mit aus chemisch reiner Glucose hergestelltem Phenylglucosazon zu vermischen und dann nochmals den Schmelzpunkt zu bestimmen; dieser soll dann unverändert bleiben. Dieser Kreuzversuch ist bisher noch von keinem der betreffenden Forscher unternommen worden!

Und hat man dann schliesslich unwiderlegbar feststellen können, dass wirklich Phenylglucosazon vorliegt, so kann dies noch herrühren von den verschiedenen Glucoseisomeren, von Mannose, Fructose (5, S. 94), Chitosamin (Glucosamin) (285, S. 253; 453, S. 188), Isoglucosamin (453, S. 188) und vielleicht noch anderen mehr.

Die Unlöslichkeit des Phenylglucosazons sowohl in warmem als in kaltem Wasser ist ziemlich charakteristisch; darum möge an dieser Stelle die Aufmerksamkeit darauf hingelenkt werden, dass Pickardt (443) fand, dass die aus Rinder- und Hundeblood hergestellten Osazonkrystalle sich erst beim Erkalten der Flüssigkeit absetzten. Das ist vielmehr eine charakteristische Eigenschaft des Maltosazons [Grimbert (240)]. Doch scheint auch Maltose nicht die Substanz zu sein, welche die Krystalle lieferte. Denn erstens hat man, wie wir schon einige Seiten früher gesagt haben, diese Biase nur in seltenen Fällen im Blute nachweisen können, und zweitens soll sich nach Lépine und Boulud das betreffende Osazon von Schmelzpunkt 206° in Äther lösen, während sowohl Glucosazon als Maltosazon darin unlöslich sind [Bierry (38),

Grimbert (240), Lépine und Boulud (336)]. [Für die weitere Differenzierung zwischen Glucose und Maltose sei auf Grimbert (l. c.) verwiesen.]

Die übrigen Punkte geben zu keinen näheren Kommentaren Anlass, da sie nur von untergeordneter Bedeutung sind.

Alles zusammen wird der Leser sich nicht dem Eindruck entziehen können: zwar gibt es viele Hinweise, dass der „freie Blutzucker“ Glucose ist, aber dies steht noch nicht unwiderleglich fest. Übrigens sei unter anderem auf die kurze, aber kritische Übersicht von Macleod (366, S. 181) hingewiesen.

### C. Physikalischer Zustand des freien Blutzuckers.

Zum Schluss müssen wir noch mit wenigen Worten den physikalischen Zustand besprechen, worin sich der „freie Blutzucker“ im Blute befindet, d. h. ob er tatsächlich vollkommen frei molekular gelöst ist, denn es werden dann und wann Beobachtungen mitgeteilt, die dies zweifelhaft erscheinen lassen.

Von Hess und Mc Guigan (259) liessen das zirkulierende Blut von mit Morphin und Äther narkotisierten Hunden nach einer bestimmten Technik dialysieren: dabei verhielt sich der Blutzucker tatsächlich vollkommen „frei“. Wie wir später sehen werden, sind diese Versuche doch nicht vollbeweisend, weil beide Narkotica unter gewissen Umständen eine Spaltung des „gebundenen Zuckers“ herbeizuführen imstande scheinen (s. S. 221). Und auch die beiden genannten Autoren dachten schon an eine sehr wenig widerstandsfähige Bindung, die bereits durch Konzentrationsdifferenzen sich löste. Praktisch dieselben Versuchsergebnisse erhielten Dastre und Arthus [zit. nach Randoïn (453) S. 30] mit anderer Technik, und ebenso Michaelis und Rona (394) mit ihrer Kompensationsdialyse.

Delaville und Richter-Quittner (154) verwendeten zu gleichem Zweck die Ultrafiltration durch Kollodiummembranen; auch sie sahen den Zucker vollkommen frei die Membran passieren. Zuvor aber hatten sie, zur Vermeidung von Glykolyse, NaF oder saures (!) Natriumphosphat zugesetzt; man kann also die, wenn auch nicht wahrscheinliche, Möglichkeit nicht ausschliessen, dass hierdurch schon Zucker in Freiheit gesetzt worden war.

Viel früher schon hatte Kolisch [zit. nach Loewi (285, 354)] eine derartige oberflächliche Bindung des freien Blutzuckers angenommen zur Erklärung der Tatsache, dass dieser beim normalen Individuum nicht durch die Niere ausgeschieden wird, und Loewi hat diese Meinung auf Grund von einzelnen zweifelhaften Versuchen übernommen. Loewis weitere neuere Versuche über Glucoseadsorption an die Blutelemente und die Rolle des Insulins bzw. „Glykamins“ dabei wollen wir hier nicht besprechen; es sei auf die Originalmitteilungen verwiesen.

Dass aber solche Versuche, wenn sie negatives Ergebnis liefern, etwas gegen den Begriff des „gebundenen Zuckers“ beweisen sollten, ist irrtümlicherweise sowohl von Hess c. s. (l. c.) als von Richter-Quittner (459, 460) behauptet worden. Denn alle ihre Versuche betreffen den reduzierenden Stoff der mit den üblichen Methoden als „freier“ Blutzucker bestimmt wird; mit der hydrolysierbaren Substanz hat sich keiner von ihnen beschäftigt, keine einzige Hydrolyse haben sie ausgeführt!

Wohl scheint ein Teil der freien reduzierenden Substanzen kolloidal zu sein; Stepp (505) fand, dass Bleisalze wohl Verluste bewirken beim Blutzucker, nicht aber bei chemisch reiner Glucose; Lépine (325) sah dann und wann nur die hydrolysierbare Substanz dialysieren und den „freien“ Blutzucker nicht; Rusznyak und Hetenyi (474, 475) stellten in Ultrafiltrationsversuchen fest, dass aus Serum von Diabetikern und Nephritikern sogar 20—30% der Stoffe mit reduzierendem Vermögen die Membran nicht zu passieren imstande war.

Ist tatsächlich eine Adsorption an diesen Erscheinungen beteiligt, so könnte man dies vielleicht durch Verdrängung mit irgendeiner capillaraktiven Substanz zeigen (153).

### III. Der „gebundene Zucker“ des Blutes.

Wenn wir jetzt zu unserem eigentlichen Hauptthema, dem „gebundenen Zucker“ des Blutes, übergehen, so kommen wir hiermit auf ein Gebiet, das erhebliche Schwierigkeiten bietet. Wir selbst haben das erfahren, und erst ganz allmählich, nach mehreren vergeblichen Versuchen, ist es uns gelungen eine einigermaßen befriedigende Übersicht zu erhalten.

Dabei zeigte sich an allererster Stelle als notwendig, mehr als je streng zu trennen zwischen den wirklich beobachteten Tatsachen einerseits, und der ihnen gegebenen Auslegung andererseits. Zweitens war es nötig, jedesmal auch die Methodik, mit der gewisse Ergebnisse erhalten waren, sehr genau zu betrachten, weil sich herausstellte, dass oft durch kleine technische Differenzen sich anscheinend vollkommene Widersprüche erklären liessen. So kamen wir dazu, in den folgenden Kapiteln das Material zu ordnen mehr nach der von den verschiedenen Forschern verwendeten Methodik als nach den Überschriften, die sie ihrer Arbeit gaben.

Da die Begriffe, um die es sich hier der Hauptsache nach handelt, nur schwer mit wenigen Worten scharf zu definieren sind (worauf es hier vor allem ankommt), und wir doch gezwungen sein werden, bis ins Unendliche darauf zurückzukommen, so möchten wir eine Abkürzung vorschlagen, nämlich:

#### Hy-S

für: die gesamten Substanzen, die nach Hydrolyse mit Säure stärker reduzierend wirken als zuvor. Diese Bezeichnung hat zweierlei Vorteile: erstens gibt sie Raumersparnis, und zweitens — und das scheint uns die Hauptsache — präjudiziert sie nichts betreffs der chemischen Natur der in Frage kommenden Substanzen.

Das reduzierende Vermögen wird der Bequemlichkeit halber immer berechnet, als ob es von Glucose hervorgerufen war; dass es wirklich Glucose ist, ist meistens eine vollkommen unbewiesene Voraussetzung.

## A. Bestimmung des Gehaltes an Hy-S in frischem Vollblut.

Hierbei kann man zwei Wegen folgen, und zwar:

### 1. Hydrolyse mit Mineralsäuren.

Dies ist die übliche Technik. Man verwendete  $H_2SO_4$ , HCl, HF, einige Male auch HBr und HJ. Wir kommen hierauf noch näher zurück.

### 2. Hydrolyse mit organischen Säuren.

In den wenigen Untersuchungen, die hiermit angestellt worden sind, hat man meistens Weinsäure verwendet, ein einziges Mal auch Citronensäure. Auch dies werden wir auf den nächsten Seiten noch näher besprechen.

Das Ergebnis bei Verwendung dieser Methoden ist im allgemeinen, dass fast alle Autoren feststellen konnten, dass durch die Hydrolyse das reduzierende Vermögen zunimmt.

Das war schon lange bekannt; der erste Fingerzeig war schon 1855 von Figuiet (192) gefunden worden. Aus Hundeblut stellte er einen Auszug her, der selber nicht vergärbbar war, aber nach kurzem Aufkochen mit Salpetersäure deutlich Kohlensäureentwicklung und Alkoholbildung zeigte, wenn nach Neutralisierung Hefe zugesetzt wurde. Nach Condorelli habe er auch die Zunahme des Reduktionsvermögens schon beobachtet, und Lehmann habe dies im selben Jahr bestätigt.

Die Zunahme ist am deutlichsten bei Verwendung der starken Mineralsäuren. Wie man sagt, sollen verdünnte Schwefel- und Salzsäure viel schneller wirken als HF, aber die Endergebnisse sollen vollkommen gleich sein (453, S. 201).

Die Zunahme durch Hydrolyse mit Weinsäure ist viel geringer [Lépine (323)]. Solcher schwacher Mittel haben sich ausser Lépine nur ganz wenige Forscher bedient. Doch bestätigten auch Lyttkens und Sandgren (361), dass schon durch Kochen bei schwach saurer Reaktion reduzierende Substanz in Freiheit gesetzt wird. Pavy (433, S. 70) empfahl für bestimmte Fälle, wo man Destruktion fürchtet, den Gebrauch von Citronensäure; sowohl die Erhitzung im Autoklaven als die Verwendung von Schwefelsäure sei seines Erachtens in solchen Fällen besser zu vermeiden.

Es ist merkwürdig, dass einige Forscher, meistens auf Grund ganz weniger Versuche, die Bedeutung oder sogar das Vorkommen des Hy-S ganz gelegnet

haben. Einer von denjenigen, die ihm alle Bedeutung absprechen, ist Gigon (225); seines Erachtens stimmt bei Gesunden und Diabetikern, mit oder ohne Insulin, der Wert unveränderlich mit 0,70—0,90 pro mille Glucose überein. Und ganz gezeugnet wurde sein Vorkommen in einer neueren Untersuchung von Bigwood und Wuillot (70, 70a, 70b), zu der aber viele berechtigte Anmerkungen zu machen sind (Hydrolyse bei zu hoher Temperatur während zu langer Zeit, Verwendung der Methode Hagedorn-Jensen, die hier vollkommen unbrauchbar ist, weil das Zinkhydroxyd die Eiweissabbauprodukte nur sehr unvollständig entfernt usw.). Mit diesen Autoren hat übrigens Bierry (39a, 39c) schon abgerechnet.

Auch vagen Äusserungen und Vermutungen begegnet man dann und wann, so z. B. bei Lyttkens und Sandgren (360).

Wie gesagt, haben aber weitaus die meisten Forscher wohl positive Ergebnisse erhalten.

### Methoden.

Eine der am meisten verwendeten Methoden war die von Bierry, die anfänglich darin bestand, dass man das Blut sofort nach Austritt aus dem Gefäss hämolysierte, indem man es in destilliertem Wasser auffing, dem gegebenenfalls etwas NaF oder  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  zugesetzt war. Dann wurde es unter Schütteln mit der geeigneten Menge Mineralsäure, entweder HF, HCl oder  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , versetzt, im Autoklaven auf  $120^\circ$  erhitzt, wiederum neutralisiert, das Eiweiss und seine Abbauprodukte mit dem Mercurinitratreagens von Patein-Dufau entfernt und nach Entfernung der Quecksilberreste im Filtrat der Gesamtzuckergehalt bestimmt nach Bertrand-Mohr. Daneben wurde eine Bestimmung des freien Zuckers ausgeführt. Subtrahierte man dann den letzten Wert vom ersten, so bekam man eine Zahl, die den Gehalt an „gebundenen Zucker“ (unsern Hy-S) angab.

Wird eine Blutprobe mit verschiedenen Säuren hydrolysiert, dann ist, wie man sagt, das Endergebnis dasselbe, nur wirkt die eine Säure langsamer als die andere; HF wirkt am trägsten. Die Dauer der Hydrolyse hat also wohl Einfluss. Schon nach wenigen Minuten fängt die Abspaltung an; dies konnten Edie und Spence (163) feststellen.

Anfangs wurde die Hydrolyse von Bierry und Fandard meistens in hermetisch verschlossenen Bleigefässen ausgeführt mit Hilfe von HF; auch Lépine und seine Mitarbeiter bedienten sich in einem großen Teil ihrer Versuche derselben Methode. Die letztgenannte Gruppe von Autoren hat dabei aber einen Fehler begangen: sie enteissigten das Blut vor der Hydrolyse mit kochender Natriumsulfatlösung oder mit dem Mercurinitratreagens von Patein-Dufau, und hydrolysierten dann wohl das Koagulum, aber nicht das eiweissfreie Filtrat. Durch diese Inkonsequenz müssen ihre Werte etwas

zu niedrig sein, wenn auch wahrscheinlich in den meisten Fällen der Fehler nicht sehr gross sein wird. Inkonsequent war es aber gewiss, gegenüber ihren eigenen früheren Befunden von gepaarten Glycuronsäuren, Maltose usw. Wie dem auch sei, es möge nochmals betont werden, dass ein grosser Teil von Lépinés Arbeiten solche Hydrolysewerte betrifft, da man meistens meint, er habe mit seinen Mitarbeitern nur den durch Enzyme abgespaltenen Zucker untersucht: in Wirklichkeit sind die Versuche der ersten Kategorie bei weitem in der Mehrzahl.

Bisweilen aber wurde die Flusssäure von Lépine ganz anders verwendet als von Bierry c. s. Lépine (323, S. 67) brachte in mehreren Parallelversuchen 20 g Blut in einen Kolben, der schon 15 ccm angesäuerte Natriumsulfatlösung enthielt, kochte dann das Gemisch auf, zentrifugierte das Koagulum ab und wusch dies noch zweimal mit kochendem Wasser. Die klaren Flüssigkeiten wurden vereinigt und mit Mercurinitrat enteieisst (A). Die Koagula hingegen wurden mit 45 ccm destillierten Wassers und 5 g 50% HF in ein verschliessbares Bleigefäss mit Sicherheitsventil gebracht und in einem Ölbad von 100° 18—34 Stunden belassen. Von Zeit zu Zeit wurde das verdampfte Wasser nachgefüllt und gleichzeitig die Koagula sorgfältig zerkleinert. War die Hydrolyse vollendet, dann setzte man eine reichliche Menge Mercurinitratreagens zur Enteieissung zu. Das Filtrat wurde mit Flüssigkeit A vereinigt, mit KOH neutralisiert, filtriert, das Koagulum ausgepresst, die Quecksilberreste mit H<sub>2</sub>S entfernt, die Flüssigkeit aufs neue filtriert, angesäuert und eingeeengt; zum Schluss wurde eine Zuckerbestimmung nach Bertrand ausgeführt. Die von diesen Autoren zum Enteieissen verwendete Menge Pateinreagens war viel beträchtlicher als Bierry c. s. anfänglich angegeben hatten: pro 20 ccm Blut brauchten sie nicht weniger als 20 bis 30 ccm (342).

Die endlich von Bierry und Fandard (58) definitiv angenommene Technik war folgende:

Blut zuvor mit wenigstens 3, Plasma mit wenigstens 1½ Vol. destillierten Wassers versetzen, dann pro 100 ccm Flüssigkeit 2 ccm H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> zusetzen. [Diese Säure muss ein spezifisches Gewicht von 1,84 (66° Beaumé) haben und sich bei der Untersuchung mit dem „réactif hydrostrychnique“ von Denigès frei zeigen von HNO<sub>2</sub> und HNO<sub>3</sub>.] Man hält das Gemisch 40 Minuten im Autoklaven bei 120°, lässt dann abkühlen, neutralisiert und präcipitiert das Eiweiss mit dem Reagens von Patein-Dufau, das man in folgender Weise herstellt:

400 g Mercurinitrat in Plättchen werden gelöst in 700 ccm destillierten Wassers unter Erwärmen auf 40° und Zusatz der strikt nötigen Menge konzentrierter Salpetersäure; man schüttelt bis sich alles gelöst hat, kühlt ab und setzt soviel (starke) Natronlauge zu, bis sich die ersten Spuren eines bleibenden gelben Niederschlages zeigen: dann füllt man mit destilliertem Wasser auf 1 l auf und filtriert (durch ein gehärtetes Filter) (37).

Im Blindversuch darf das Reagens keine eigene Reduktion zeigen (13).

Von diesem Reagens setzt man, wenn man von 50 ccm Blut ausging, die folgenden Mengen zu: nach Hydrolyse mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 80 ccm, mit HCl 100 ccm, mit HF 90 ccm; für grössere oder kleinere Blutmengen braucht man proportional mehr oder weniger. Der Zusatz geschieht nicht auf einmal, sondern in mehreren kleineren Portionen und unter beständigem kräftigen Rühren. Dann setzt man Lauge zu, bis die Neutralisation nahezu vollkommen ist, d. h. bis Bromkresol-

purpurpapier (Filtrierpapierstreifen, getränkt in einer 4 pro milligen Lösung dieses Farbstoffs) gerade den Farbumschlag von gelb zu violett zeigt [ $p_H$ 6.5 (50)], oder man neutralisiert vollkommen und setzt dann einige Tropfen starker Essigsäure zu [Randoïn (453, S. 207)]. Dann setzt man destilliertes Wasser zu bis zu einem bestimmten Volumen und filtriert. Aus dem klaren Filtrate entfernt man dann noch die Quecksilberreste entweder mit  $H_2S$ , der dann nachher wieder sorgfältig vertrieben werden muss, oder man lässt die Flüssigkeit einige Stunden in der Kälte in Berührung mit Kupferspänen [die aber nach Harned (252) das Endergebnis unregelmässig machen sollen] oder Zinkstaub. Im letzten Falle kann man sogar die Nacht über stehen lassen (84). Die Behandlung mit den beiden genannten Metallen hat aber, theoretisch wenigstens, den Nachteil, dass, insoweit nicht sehr sorgfältig neutralisiert ist — und, wie gesagt, muss man immer an der sauren Seite bleiben, auch weil sonst die Filtrationen viel Mühe machen — Wasserstoff entstehen muss, der starke Reduktionen veranlassen und dadurch auch der Flüssigkeit ein erhöhtes reduzierendes Vermögen verleihen kann [Condorelli (133)]. Schwefelwasserstoff aber kann genau denselben Fehler verursachen, weil es ein starkes reduzierendes Vermögen besitzt und sich aus einer Lösung kaum vollständig entfernen lässt. Da es aber für die weitere Verarbeitung unbedingt notwendig ist, auch die letzten Quecksilberspuren zu entfernen, wird man diesen Fehler mit in Kauf nehmen müssen.

Nun kann man in der so erhaltenen Flüssigkeit nach einer der üblichen Methoden den Zuckergehalt bestimmen: die älteren französischen Autoren verwendeten die von Bertrand.

Dieselbe Prozedur kann man statt auf Blut auch auf Plasma, Serum, Cerebrospinalflüssigkeit usw. verwenden. Enthält die zu enteiuweissende Flüssigkeit voraussichtlich viel Eiweiss, so muss man zuvor eine genügende Menge Wasser zusetzen, damit nicht das Ganze bei der Hydrolyse gelatiniert und diese dadurch unvollständig wird. Erwartet man aber einen niedrigen Zuckergehalt, dann muss man nach Entfernen des Eiweiss das Filtrat in vacuo bei etwa  $40^0$  einengen, um eine Zuckerbestimmung nach Bertrand-Mohr zu ermöglichen. Mit den jetzigen Mikromethoden kommt man aber meistens auch ohne dies aus. Später kommen wir bei unseren eigenen Versuchen hierauf noch ausführlicher zurück.

Mme. Randoïn (453, S. 193) hat sich in einer Reihe von Versuchen bemüht, festzustellen, welche technischen Varianten für den gestellten Zweck am vorteilhaftesten waren, sowohl für Plasma als für Vollblut. (Plasma wurde in der Weise erhalten, dass pro 50 ccm Blut 100 mg NaF zugesetzt wurde, wonach man schnell rührte und dann sofort zentrifugierte.) Es möge hier aber sofort bemerkt werden, dass es hier einer Makromethode gilt, bei der gewöhnlich nicht weniger als 50 ccm Blut für jede Bestimmung zur Verwendung kamen, ausnahmsweise nur 25—30 ccm! [Bordet war der erste der eine Mikromodifikation ausarbeitete; er brauchte für jede Bestimmung immerhin doch noch 6 ccm Plasma (84).]

1. Es zeigte sich, wie schon gesagt, notwendig, vor der Hydrolyse Blut mit wenigstens 3 Teilen Wasser zu verdünnen; für Plasma bzw. Serum genügen geringere Wassermengen.

2. Die Menge Säure wurde bei konstanter Temperatur ( $120^0$ ) und konstantem Druck (1 Atm. Überdruck) variiert. Wir entnehmen Randoïns Arbeit (453, S. 199) folgende Tabelle:

Es wurden von einer bestimmten Probe Hundeblood mehrere Portionen

von je 50 ccm genommen und mit verschiedenen Mengen Säure während 40' hydrolysiert:

A.	50 ccm Blut	+ 250 ccm Aq. dest.	+ 3,3 ccm H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pur.:	Gesamtzucker	1,87 ‰
B.	50 „ „	+ 250 „ „	+ 4,2 „ „	„ „	2,— „
C.	50 „ „	+ 250 „ „	+ 5,0 „ „	„ „	2,06 „
D.	50 „ „	+ 250 „ „	+ 5,8 „ „	„ „	2,06 „
E.	50 „ „	+ 250 „ „	+ 6,6 „ „	„ „	2,06 „

Hieraus wird man schliessen können, dass, wenn nur eine gewisse Minimalmenge Säure zugegen ist, Zusatz weiterer Mengen derselben Säure, wenn die übrigen Versuchsbedingungen gleich bleiben, kaum oder gar keinen Erfolg hat, da die abgespaltenen Zuckermengen sich alsbald asymptotisch einem Maximum nähern. Das bestätigten auch unsere eigenen diesbezüglichen Versuche, von denen wir hier nur einen anführen wollen, bei dem die Konzentrationsdifferenzen der Säure absichtlich noch grösser gewählt wurden. (Alle Bestimmungen in duplo!):

Eine Probe Kaninchenblut. Davon (40' bei 120°):

A.	1 ccm Blut	+ 1 ccm N <sub>1</sub> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	+ 3 ccm Aq. dest.:	Gesamtzucker	1,94 bzw. 1,91 ‰
B.	1 „ „	+ 2 „ „	+ 2 „ „	„ „	2,52 „ 2,50 „
C.	1 „ „	+ 3 „ „	+ 1 „ „	„ „	2,51 „ (2,32) „
D.	1 „ „	+ 4 „ „	+ 0 „ „	„ „	2,58 „ 2,56 „

Der freie Blutzucker betrug in diesem Falle 1,21 pro mille.

Anderes Beispiel, wie oben:

A'	1 ccm Blut	+ 1 ccm N <sub>1</sub> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	+ 3 ccm Aq. dest.:	Gesamtzucker	1,55 „ 1,51 ‰
B'	1 „ „	+ 2 „ „	+ 2 „ „	„ „	1,96 „ 2,06 „
C'	1 „ „	+ 3 „ „	+ 1 „ „	„ „	2,47 „ 2,48 „
D'	1 „ „	+ 4 „ „	+ 0 „ „	„ „	2,66 „ (2,18) „

Hier betrug der freie Blutzucker 1,02 pro mille.

Dieser Befund spricht also gewiss dafür, dass die bei der besprochenen Technik in Freiheit gesetzten reduzierenden Substanzen vor ihrer Spaltung eine gewisse Gemeinschaft bildeten.

Bordet (84) hat an Plasma den Einfluss verschiedener Säurekonzentrationen studiert; er kam zum Ergebnis, dass auch dabei, von einer Schwefelsäurekonzentration von 2 ‰ an, Zusatz weiterer Säuremengen meistens — bei übrigens gleichen Umständen — keine weitere Zunahme an reduzierendes Vermögen bewirkt; wesentlich also genau derselbe Befund.

Diese Übereinstimmung ist wertvoll. Denn sie beweist, dass der bisweilen geäusserte Einwand, die Reduktionssteigerung nach Hydrolyse mit Säure beruhe auf Abspaltung willkürlicher Eiweissabbauprodukte, unbegründet ist; wäre dem so, so hätte man bei Einwirkung weiterer Säuremengen einen viel weiter gehenden Parallelismus zwischen Säurekonzentration und reduzierendem Vermögen zu erwarten.

3. Weiterhin wurde auch die Art der Säure variiert: 2 Volumprozent (3,68 Gewichtsprozent) reinsten Schwefelsäure (66° Bé, D 1,842) gab bei 40 Minuten Aufenthalt im Autoklaven bei 120° die maximale Ausbeute. Für

chemisch reines HCl (22<sup>o</sup> Bé, D 1,180) waren die Zahlen: nach Zusatz von 5 Volumprozent des Gesamtvolumens 40' im Autoklaven gleichfalls bei 120<sup>o</sup>. Von chemisch reiner Fluorwasserstoffsäure (40<sup>o</sup>/<sub>10</sub>ig) nahmen sie (in Bleigefässen mit Deckel) 5 Gewichtsprozent der Gesamtmenge, wegen der Schwierigkeit, hiervon bestimmte Volumina abzumessen; in diesem Falle musste der Aufenthalt im Autoklaven 3 Stunden dauern, wenn die Temperatur 120<sup>o</sup> war. Das mit den drei Säuren in dieser Weise erhaltene Endergebnis war nach Randoïn dasselbe (453, S. 201).

4. Schliesslich als vierte Variable, haben wir die Dauer der Erhitzung. Liessen sich die drei vorigen durch Wahl geeigneter Bedingungen als Variable mehr oder weniger vollkommen ausschalten, so ist man bei der vierten leider darauf angewiesen, willkürlich eine gewisse Zeitdauer zu wählen. Dies ist gewiss ein schwacher Punkt der Methodik, aber wenn man nur dafür sorgt, immer gleich lange zu erhitzen, sind doch wohl konstante, reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten. So hydrolysierten die meisten französischen Forscher (Bierry, Randoïn u. a.) bei ihren quantitativen Untersuchungen Blut immer während 40', Serum und Plasma 30', während die Italiener (Condorelli c. s.) dies meistens nur 10' taten. Nichtsdestoweniger scheinen die Ergebnisse beider Gruppen von Forschern vergleichbar zu sein.

Setzt man aber die Erhitzung zu lange fort, so treten allerhand Unregelmässigkeiten auf, und durch eintretende Zerstörung oft sogar beträchtliche Verluste (453, S. 193). Auch wir haben uns davon überzeugen können; es folgen hier nur einige wenige Beispiele:

Einem normalen Kaninchen wurde, nachdem ihm etwas Blut zur Analyse entnommen war, Insulin eingespritzt. Sobald Krämpfe eingetreten waren, wurde zum zweiten Male das Blut analysiert. Die Verarbeitung geschah folgendermassen: Es wurden Glasröhrchen beschickt mit je 1 ccm Blut + 3 ccm  $\frac{2}{3}$  N.-Schwefelsäure + 1 ccm Aq. dest. und dann zugeschmolzen. Alle Bestimmungen wurden in duplo ausgeführt. Sodann wurde von jeder der beiden Blutproben:

- a) eine Röhre 40' bei 120<sup>o</sup> hydrolysiert;
- b) eine Röhre zweimal 40', sofort nacheinander, bei 120<sup>o</sup> hydrolysiert (a und b wurden sofort weiter verarbeitet);
- c) eine Röhre 40' bei 120<sup>o</sup> hydrolysiert, wonach sie, ungeöffnet, 2 Tage in der Kälte stehen blieb;
- d) eine Röhre 40' bei 120<sup>o</sup> hydrolysiert, dann 2 Tage ungeöffnet in der Kälte stehen gelassen und aufs neue 40' bei 120<sup>o</sup> gehalten. Die Weiterverarbeitung geschah also 2 Tage später als die von a und b.

Das Ergebnis war folgendes:

Normalblut			Blut nach Insulinkrämpfen		
Freier Blutzucker	Gesamt-Blutzucker	Hy-S	Freier Blutzucker	Gesamt-Blutzucker	Hy-S
0,97			0,36		
a)	1,11	0,14		0,55	0,19
b)	1,46	0,49		0,68	0,32
c)	2,65	1,68		1,31	0,95
d)	3,03	2,06		1,79	1,43

Es stellte sich also heraus beim Vergleich von a) und b), dass die verdoppelte Hydrolysedauer den Hy-S-Wert auf mehr als das Dreifache (0,14 bzw. 0,49 pro mille) steigen lassen kann. Und zweitens ist aus diesen Zahlen ersichtlich (beim Vergleich von a) und c)), dass es keineswegs gleichgültig ist, ob man die abgekühlten Hydrolysate sofort verarbeitet oder sie einige Zeit kalt aufbewahrt; auch in der Kälte tritt mit der Zeit eine enorme Steigerung des reduzierenden Vermögens ein.

Daraus ergibt sich die praktische Konsequenz, dass man seine Hydrolysate immer sofort weiter verarbeiten muss, um richtige Werte zu bekommen, denn nicht nur immer ansteigende Werte, wie im oben gegebenen Beispiel, kommen vor, sondern auch unregelmässige Schwankungen und unberechenbare Verluste.

Nach Randoin brauche man Serum bzw. Plasma nicht so lange zu erhitzen als Vollblut.

5. Für die Enteiweissung von Bluthydrolysaten wurde von Bierry, Randoin c. s. das schon beschriebene Patein-Dufausche Mercurinitratreagens verwendet; für Plasma- oder Serumhydrolysate zeigten sich auch Mercuriacetat oder Phosphorwolframsäure brauchbar; die Endergebnisse waren dieselben (453, S. 212).

Auch war es ihres Erachtens gleich, ob man freien und Gesamtzucker bestimmte und dann die Differenz zwischen den beiden Werten als Hy-S betrachtete, oder zuerst den freien Zucker wegglykolyisieren liess bzw. mit schwachen Alkalien zerstörte und dann nach Hydrolyse sofort den Hy-S-Wert fand [Randoin (453, S. 214, 218), Bierry c. s. (44)].

Bei der Besprechung der Glykolyse werden wir noch sehen, dass dies höchstwahrscheinlich unrichtig ist, wenigstens keine Regel ist, wenn auch nicht auszuschliessen ist, dass die betreffenden Autoren es zufälligerweise einigemal beobachtet haben. Mehr beweisend erscheint die Methode von Quagliariello c. s. (449), bei der der freie Blutzucker zuerst mit Bierhefe vollkommen vergoren wurde. Wurde dann hydrolysiert, dann zeigte das Hydrolysat danach aufs neue ein kräftig reduzierendes Vermögen, und es gelang daraus Phenylglucosazon herzustellen. Durch erneute Vergärung verschwanden beide Eigenschaften wiederum. Voll beweisend sind aber auch diese Versuche nicht, denn wir wissen, dass Hefe bei der Vergärung ebensogut komplexe Kohlenhydrate, Hexosephosphate usw. synthetisiert wie der lebende tierische Körper beim Zuckerumsatz.

Eine etwas von der Bierryschen abweichende Methode der Hydrolyse mit HF beschrieben Lépine und Boulud (341); nach ihnen muss man arterielles Blut gewöhnlich 30—32, venöses 24—26 Stunden erhitzen, um die maximalen Zuckerwerte zu erhalten; zuvor sowohl wie nachher sind die Werte niedriger. Zur Bestimmung des richtigen Augenblicks empfehlen sie, 3 bis 4 Parallelversuche anzustellen, die verschieden lange erhitzt werden. Die höchste Ziffer ist dann die richtigste, vorausgesetzt, dass die Enteiweissung vollständig war. Während der Hydrolyse müssen die Koagula 3—4 mal

zerkleinert werden. Doch schliesslich meinte Lépine (325), dass HF bisweilen nicht allen „gebundenen Zucker“ in Freiheit setzt; andererseits soll bisweilen eine erneute Bindung in geänderter Konfiguration stattfinden, im besonderen wenn die Verdünnung nicht genügend war; daher die dann unregelmässigen Ergebnisse (342).

Über die Grundlagen unserer eigenen, zu orientierenden Versuchen vollkommen ausreichenden, auf der Methode Bierry-Moquet beruhenden colorimetrischen Mikromethode für Gesamtblut sprachen wir schon; über die weitere technische Ausführung wird später berichtet werden. Die Ergebnisse finden weiter unten Erwähnung.

Für noch genauere Arbeiten erscheint Condorellis Mikromethode, die mit Plasma arbeitet, mehr geeignet, weil sie eine titrimetrische ist.

Die Vorschrift dafür ist folgende (136):

**Reagenzien:**

a) Hydrolysierende Flüssigkeit (A):	
Gesättigte Lösung von KCl puriss. . . . .	1300 ccm
$\frac{N}{1}$ HCl . . . . .	250 „
Aqua destillata . . . . .	450 „
b) Neutralisierende Flüssigkeit (B):	
Gesättigte Lösung von KCl puriss. . . . .	1300 „
$\frac{N}{1}$ NaOH . . . . .	250 „
Aqua destillata . . . . .	450 „
c) Flüssigkeit C:	
Gesättigte Lösung von KCl puriss. . . . .	1300 „
3% Uranylacetatlösung . . . . .	200 „
25% HCl . . . . .	3 „
4% Essigsäure . . . . .	5 „
Aqua destillata bis . . . . .	2000 „
d) Flüssigkeit D (Enteiweissungsflüssigkeit nach Bang):	
Gesättigte Lösung von KCl puriss. . . . .	1300 „
1,5% Uranylacetatlösung . . . . .	200 „
25% HCl . . . . .	1,5 „
4% Essigsäure . . . . .	2,5 „
Aqua destillata bis . . . . .	2000 „
e) Kupfer-Jod-Lösung:	
$\frac{N}{10}$ Kaliumjodatlösung . . . . .	10 „
CuSO <sub>4</sub> pur. cryst. . . . .	0,25 g
Aqua destillata bis . . . . .	100 ccm
f) Alkalische Lösung:	
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> puriss. . . . .	75 g
Seignettesalz . . . . .	20 „
Aqua destillata bis . . . . .	1000 ccm
g) 20% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .	
h) 10% KJ-Lösung.	
i) 1%ige, vollkommen klare Lösung von Amylum solubile.	
k) $\frac{N}{100}$ Natriumthiosulfatlösung.	

Die Lösungen C und D werden am besten erst eine Woche nach ihrer Herstellung verwendet, wenn sie sich geklärt haben.

**Methodik:**

a) Blutentnahme: In ein kleines, vollkommen reines Zentrifugenröhrchen bringt man einige Krystalle von reinstem Natriumcitrat. Dann reinigt man die Fingerspitze und macht mit einer Frankeschen Nadel einen Einstich. Das austretende Blut lässt man unter fortwährendem Schütteln in die Röhre tropfen, bis man 1 oder 2 ccm hat; dann wird sofort zentrifugiert.

b) Hydrolyse: Mit einer auf Tausendstel verteilten, vorher tarierten Pipette misst man möglichst genau 0,2 ccm Plasma ab, und lässt davon je 0,1 ccm in zwei Reagenröhrchen von 8 oder 9 ccm Inhalt fließen. Dem einen Röhrchen setzt man 6 ccm der Flüssigkeit D zu und kann dann weiter darin den freien Blutzuckergehalt bestimmen. Zum anderen Röhrchen setzt man genau 1,5 ccm der Flüssigkeit A hinzu und bestimmt dann den Gehalt an gebundenen Zucker folgendermassen: Sobald man die Flüssigkeit A zugefügt hat, koaguliert das Eiweiss: man schüttelt das Röhrchen, deckt es mit einem Glasdeckel ab, stellt es in ein Becherglas und bringt das Ganze in den bereits geheizten, reichlich Dampf entwickelnden Autoklaven, schliesst diesen und schliesst auch, sobald die Luft entwichen ist, den Dampfahn. Man achtet darauf, wann der Überdruck auf 1 Atm. gestiegen ist, und behält diesen Zustand während 10 Minuten bei: zahlreiche Experimente haben bewiesen, das hierbei schon die Abspaltung des vorher gebundenen Zuckers vollkommen ist. Dann lässt man den Druck im Autoklaven allmählich sinken und nimmt schliesslich das Röhrchen heraus.

c) Neutralisation und Enteiweissung: Dann setzt man genau 1,5 ccm von Flüssigkeit B zu. (Ein eventueller Überschuss von 0,02 ccm von A ist unschädlich, Überschuss von B hingegen hindert die vollkommene Enteiweissung beträchtlich: deshalb kommt es dabei auf genauestes Abmessen an.) Man schüttelt, damit beide Flüssigkeiten sich sofort gut mischen; versetzt sie mit 3 ccm von Flüssigkeit C, kehrt das Röhrchen zwei- oder dreimal um und lässt 4 Stunden im Dunkeln stehen. (Nach etwa 2 Stunden, wenn der zuerst entstandene Niederschlag zu Boden gesunken ist, bildet sich eine neue Trübung, welche sehr langsam niederschlägt. Wartet man nicht lange genug, so bekommt man zu hohe Werte. Doch muss die Berührung mit der uranhaltigen Lösung auch nicht zu lange dauern, weil dann wieder andere störende Erscheinungen auftreten können, bestehend in einer katalytischen Wirkung des Urans, die reduzierende Produkte liefert. Darum muss man auch jede direkte Sonnenbestrahlung vermeiden.) Kann man nach Verlauf von 4 Stunden die weitere Verarbeitung nicht mehr ausführen, so empfiehlt es sich, doch jedenfalls zu filtrieren und dann das Filtrat im Dunkeln aufzubewahren. Die Filtration muss mit folgenden besonderen Vorsichtsmassnahmen geschehen.

d) Herstellung der Filter: Die schon präparierten Filter werden in einer grossen Entwickelschale 24—48 Stunden in strömendem Wasser gehalten, dann mit kochendem, mit Essigsäure angesäuertem destilliertem Wasser gewaschen, diese Waschung ein paar Male wiederholt, dann nochmals mit reinem, kochendem destilliertem Wasser gespült und schliesslich im Brutkasten getrocknet (nicht im Trockenschrank, weil dort die hohen Temperaturen leicht zum Entstehen von reduzierenden Abbauprodukten des Papiers Anlass geben.)

Die Filtration nimmt man so vor, dass man zuerst ein gut dem Trichter anliegendes Filter mit Aqua destillata benetzt, dann die Flüssigkeit darauf aufgiesst, das Röhrchen nochmals mit 6 ccm von Flüssigkeit D nachspült und auch dieses auf das Filter giesst. Das Filtrat sammelt man in kleinen Kolben von 60 ccm Inhalt, mit rundem Boden und weitem, kurzem Hals.

Von diesem Punkt ab ist die weitere Verarbeitung genau wie bei der Mikromethode der Blutzuckerbestimmung von Bang, auf dessen Veröffentlichungen deshalb für Einzelheiten verwiesen werden möge. In grossen Zügen ist sie folgende: Man setzt 1 ccm der Jodat-Kupfer-Lösung und 2 ccm der alkalischen Lösung F zu, lässt 4 Minuten im kochenden Wasserbade, versetzt mit 2 ccm 20%  $H_2SO_4$ , setzt 20 ccm kaltes destilliertes Wasser zu und lässt abkühlen. Dann titriert man in folgender Weise: Man setzt 0,5 ccm 10% KJ und 0,5 ccm 1% lösliche Stärke zu, und titriert das freikomende Jod mit 0,01 oder 0,005 N-Natriumthiosulfat. So kann man, nach Abzug des Blindversuchs (der niemals mehr als 0,03 ccm der 0,01 N-Jodlösung betragen darf), berechnen, wieviel Jod vom Kupferoxydul reduziert worden ist, und daraus

indirekt, wie viel der Gehalt an Zucker pro mille betrug; 0,280 ccm der N/100-Jodlösung werden reduziert von der Menge Kupferoxydul, welche 0,1 mg Glucose produziert.

Für die Bestimmung des freien Blutzuckers geht man folgendermassen vor: In das Röhrchen mit 0,1 ccm Blutplasma bringt man 6 ccm von Flüssigkeit D, und verarbeitet dann das Gemisch, nachdem es 4 Stunden gestanden hat (im Dunkeln), genau wie für die Bestimmung des Gesamtzuckers beschrieben.

Wenn man dann vom Totalzuckerwert den Freienblutzuckerwert subtrahiert, bekommt man den Wert für den „gebundenen Zucker“.

Nach Condorelli hat diese Methode nur eine Fehlerbreite von 0,02 bis 0,03 pro mille, wenn man mehrere Bestimmungen an derselben Blutprobe ausführt. Die Ergebnisse sollen genau mit denen von Lepines Makromethode übereinstimmen.

Der Leser wird bemerkt haben, dass diese Methode im Grunde eine an die Hydrolyse adaptierte Modifikation des Bangschen Verfahrens zur Bestimmung des freien Blutzuckers ist. Wir haben sie so ausführlich wiedergegeben, weil das Original ziemlich schwierig zugänglich ist. Doch wird sie wahrscheinlich in der Zukunft noch manchem Forscher von Nutzen sein können; die vielen italienischen Autoren der letzten Jahre haben sie wenigstens fast ohne Ausnahme zu ihrer grossen Zufriedenheit benutzt, und sehr zuverlässige Werte damit erhalten. Ausserdem ist sie zur Zeit wohl die schärfste Methode; wenige Tropfen Blut genügen zu einer Bestimmung.

Bufano (98) hat sie noch in verschiedener Hinsicht kontrolliert. Erstens hat er untersucht, ob durch die Hydrolyse der Amino-N-Gehalt zunahm: dies war nicht der Fall. Daraus darf man schliessen, dass bei dieser Technik wenigstens die Eiweisse nicht soweit zerstört werden, dass reduzierende Aminosäuren die Zunahme des reduzierenden Vermögens der Gesamtflüssigkeit verursachen können; eine wichtige Feststellung. Schwieriger kann man die Bedeutung, und sogar die Richtigkeit seiner Beobachtung einsehen, dass Lösungen von Glykogen-Merck von der seines Erachtens im Blute vorkommenden Konzentration (4,5—15,0 pro mille) bei dieser Hydrolysemethode kein reduzierendes Produkt liefern sollten.

Zum Schluss geben wir hier noch die ausführliche Vorschrift für das neueste von französischer Seite bekannt gegebene Verfahren, das man, obwohl es mit grösseren Mengen arbeitet, doch auch noch wohl als Mikromethode betrachten darf. Es hat aber den Vorteil, dass es, ebenso wie unsere eigene in einer späteren Publikation ausführlich zu beschreibenden Technik, eine verfeinerte Fortsetzung der erprobten Bierryschen Methode ist; ausserdem hat sie im Gegensatz zu unserer eigenen den Vorteil, eine titrimetrische zu sein.

[Kurz vorher hatte schon Bierry (39a) eine vorläufige Beschreibung der Methode publiziert. Darin war bemerkenswert, erstens, dass er zur Entfernung des Quecksilbers die enteissten Filtrate zuerst mit Zinkpulver und dann nachher erst mit Kupferspänen behandelte; und zweitens, dass es, im Gegensatz zu unserer eigenen Erfahrung, ihm nicht gelang, die Methode erfolgreich mit der Folin-Wuschen colorimetrischen Bestimmungsmethode zu kombinieren.]

Die neueste Methode ist folgende (68a, 68b, 68c):

Man nimmt arterielles Blut, weil dieses die konstanteste Zusammensetzung hat, setzt 3 pro mille NaF zu und zentrifugiert. Dann kann man vom Plasma entweder 3 ccm oder 1 ccm verarbeiten.

**Freie Zuckerbestimmung:**

a) In 3 ccm Plasma. Mit Hilfe einer nachgeprüften, auf Ausblasen kalibrierten Pipette misst man genau 3 ccm Plasma ab, indem man sorgfältig aufsaugt und nur die Spitze der Pipette im Plasma untertaucht. Dann bringt man den Inhalt in einen Masskolben von 25 ccm, spült die Pipette dreimal mit je 3 ccm destillierten Wassers, die man zum Plasma hinzusetzt, und gibt dann tropfenweise 3 ccm Quecksilbernitratlösung von der schon erwähnten Zusammensetzung hinzu. Dann tropft man unter Schütteln 2 n-NaOH hinzu, bis ein mittels Platindraht der Flüssigkeit entnommenes Tröpfchen Bromkresolpurpurpapier violett färbt, empfindliches neutrales Lackmuspapier aber noch schwach rötet ( $p_H$  6,5). Dann füllt man, nachdem man den Schaum durch einen Tropfen Äther hat zusammenfallen lassen, auf 25 ccm auf und filtriert. Aus dem Filtrat entfernt man den Überschuss des Quecksilbers durch Schütteln mit Zink- (oder Kupfer-) pulver. Nochmals filtriert man, und bringt die Flüssigkeit jetzt mit Kupferspänen zusammen: so erreicht man die vollständige Entfernung des Quecksilbers. Vom Filtrat nimmt man dann 5 ccm für die Zuckerbestimmung.

b) In 1 ccm Plasma. Man misst 1 ccm Plasma ab, spült mit destilliertem Wasser nach, setzt 1 ccm Mercurinitratlösung hinzu, neutralisiert tropfenweise mit 2 n-NaOH wie oben beschrieben, und bringt das Volumen in einem Masskölbchen auf 10 ccm. Dann filtriert man durch Saugfilter so, dass man wenigstens 6 ccm Filtrat bekommt.

**Bestimmung des Gesamtzuckers:**

a) Bestimmung in 3 ccm Plasma: 3 ccm Plasma, unter den schon genannten Fürsorgen abgemessen, bringt man in einen Masskolben von 25 ccm, setzt 9 ccm destilliertes Wasser und 1 ccm Schwefelsäure (66° B., D 1,84, auf  $\frac{1}{4}$  [Volumteile] verdünnt) hinzu und verschliesst das Gefäß mit Glaswolle. Dann hält man es 30 Minuten bei 120° im Autoklaven, lässt abkühlen und neutralisiert genau mit 2 n-NaOH (etwa 3 ccm). Sodann tropft man unter Schütteln zuerst 3 ccm Mercurinitratlösung und dann wiederum 2 n-NaOH hinzu bis in der oben angegebenen Weise ein  $p_H$  von etwa 6,5 erreicht ist (dazu braucht man etwa 3 ccm Lauge). Man fällt den Schaum mittels eines Tropfens Äther, füllt auf 25 ccm auf und filtriert. Die Entfernung des Eiweisses erfolgt wie oben umschrieben.

b) Bestimmung in 1 ccm Plasma: Vorsichtig arbeiten! Man bringt 1 ccm Plasma, 3 ccm Aqua destillata, und 0,35 ccm auf  $\frac{1}{4}$  (Volumteile) verdünnte Schwefelsäure zusammen, hält dies 30 Minuten auf 120° und neutralisiert nach Abkühlen mit 2 n-NaOH (etwa 1 ccm). Dann tropft man 1 ccm Mercurinitratlösung hinzu und nachher soviel 2 n-NaOH, dass das genannte  $p_H$  nicht überschritten wird. Man füllt in einem Masskolben auf 10 ccm auf und filtriert auf Saugfilter, um mindestens 6 ccm Filtrat zu erhalten.

Hat man so eiweissfreie zuckerhaltige Lösungen hergestellt, dann kann man zur Reduktionsbestimmung übergehen:

In ein konisches Zentrifugenglas aus Pyrexglas von 10 ccm Inhalt bringt man 5 ccm der Zuckerlösung und genau 2 ccm der alkalischen Kupferlösung. Letztere wird ex tempore hergestellt durch Vermischen gleicher Teile der weissen und der blauen Flüssigkeit nach der Vorschrift von G. Bertrand. Man mischt mit einem Rührstab. Die leicht mit Kork verschlossenen Röhrchen verteilt man über die Fächer eines Metallgestells und taucht sie ins Wasser eines kochenden Wasserbades, das man im Kochen hält. Der mit Flüssigkeit gefüllte Teil der Röhrchen muss unterm Wasserspiegel liegen. So belässt man sie genau 6 Minuten im kochenden, nicht abgedeckten Wasserbade und taucht sie dann auf einmal samt dem Gestell in kaltes Wasser. Sind sie genügend abgekühlt, so werden sie 2—3 Minuten mit einer Geschwindigkeit von etwa 2000 Touren zentrifugiert. Man filtriert auf Asbest mit Hilfe eines Apparats, der dem von G. Bertrand gleicht, aber von kleineren Dimensionen ist. Die Saugflasche von etwa 70 ccm Inhalt muss von sehr weissem Glas sein, um den Farbumschlag bei der Titration genau beobachten zu können. Der Oxydulniederschlag wird mit heissem gekochten Wasser gewaschen und dann gelöst in 3—5 ccm (je nach Bedarf) Eisensulfatlösung (Ferrisulfat 50 g,  $H_2SO_4$  200,

Aqua destillata ad 1 l). Man wäscht das Röhrchen, worin die Reduktion stattgefunden hat und das Asbestfilter dreimal mit insgesamt etwa 20 ccm Aq. dest. Dann titriert man mit einer genau eingestellten Kaliumpermanganatlösung, die man aus einer in  $\frac{1}{20}$  ccm verteilten Bürette zulaufen lässt. Für die Berechnung ist es am bequemsten, wenn man die Permanganatlösung in der Weise herstellt, dass 1 ccm davon gleich 1 mg Kupfer ist.

Diese Lösung enthält etwa 0,60 g Kaliumpermanganat pro Liter. Um sie genau einzustellen, wiegt man auf der analytischen Waage etwa 100 mg Ammoniumoxalat möglichst genau ab und löst es in ein wenig (aus Pyrexapparat) zweimal destilliertem Wasser. Die Lösung bringt man quantitativ in einen Masskolben über, setzt 2 ccm reiner Schwefelsäure zu und füllt mit Aq. bidest. auf 100 ccm auf. Dann misst man von dieser Lösung mit einer Pipette 10 ccm ab, bringt diese in einen Kolben, setzt noch 40 ccm Aq. bidest. hinzu, erhitzt auf 60—70° und lässt aus der Bürette Permanganatlösung hinzufließen bis bleibende Rosafärbung auftritt. Wenn man dann das Gewicht des verwendeten Ammoniumoxalats mit 0,895 multipliziert, bekommt man die Menge Kupfer, die mit dem verwendeten Volumen Permanganatlösung übereinstimmt.

Diese Permanganatlösung ist beständig, wenn man für ihre Herstellung gleichfalls ausschliesslich Wasser verwendet, das aus einem Pyrexapparat zweimal destilliert ist. Aus der Menge des benutzten Kaliumpermanganats, die nötig war, um das Ferrisalz umzusetzen, berechnet man die damit übereinstimmende Kupfermenge und liest in untenstehender Tabelle ab, mit welcher Menge wasserfreier Glucose dies übereinstimmt. Die Tabelle ist aufgestellt worden unter Benutzung reiner, trockener wasserfreier Glucose ( $[\alpha]_D = 52,70^\circ$ ).

mg Kupfer	mg Glucose	mg Kupfer	mg Glucose
0,28 . . . . .	0,00	2,95 . . . . .	1,40
0,45 . . . . .	0,10	3,15 . . . . .	1,50
0,60 . . . . .	0,15	3,35 . . . . .	1,60
0,70 . . . . .	0,20	3,50 . . . . .	1,70
0,85 . . . . .	0,25	3,70 . . . . .	1,80
0,90 . . . . .	0,30	3,90 . . . . .	1,90
1,10 . . . . .	0,40	4,10 . . . . .	2,00
1,30 . . . . .	0,50	4,50 . . . . .	2,25
1,50 . . . . .	0,60	4,90 . . . . .	2,50
1,70 . . . . .	0,70	5,30 . . . . .	2,75
1,85 . . . . .	0,80	5,70 . . . . .	3,00
2,05 . . . . .	0,90	6,50 . . . . .	3,50
2,25 . . . . .	1,00	7,30 . . . . .	4,00
2,40 . . . . .	1,10	8,00 . . . . .	4,50
2,60 . . . . .	1,20	8,75 . . . . .	5,00
2,80 . . . . .	1,30		

Mit dieser Methode soll es möglich sein, zwölf Bestimmungen in etwa 2 Stunden auszuführen.

Wenn man 6 ccm der alkalischen Kupferlösung und 3 ccm Zuckerlösung verwendet, kann man so Glucosemengen zwischen 0,10 und 9 mg bestimmen.

Glassmann (230) hat ein sehr abweichendes Verfahren ausgearbeitet, um ohne Hydrolyse den Gesamtkohlenhydratgehalt colorimetrisch, mit Hilfe von Resorcin, zu bestimmen. Die vom Autor selbst angegebenen Werte sind aber soviel höher als die mit den üblichen Methoden gewonnenen (er findet nämlich im Blute einen Gesamtzuckergehalt von 7—8 pro mille), dass man einen gewissen Zweifel nicht unterdrücken kann, um so mehr wenn man sich die verschiedenen vom Autor selbst erkannten Bedenken vor Augen führt. Dem steht aber gegenüber, dass in anderer Hinsicht die Ergebnisse

dieser Methode doch wohl wieder mit denen anderer Methoden und Untersucher übereinzustimmen scheinen; so fand z. B. auch Glassmann bei Diabetikern unterhalb der Norm liegende Werte für den „gebundenen Zucker“ oder sogar vollständiges Fehlen desselben, während Insulin wieder eine Steigerung bewirkte; also genau dasselbe, was andere Autoren mit Hydrolysemethoden feststellen konnten (s. S. 197). Wie daneben aber ein „Absinken des gebundenen Zuckergehaltes der Erythrocyten bis zur Norm“ möglich war, ist nicht ohne weiteres klar.

Man sieht: die Methodik ist reichlich variiert. Dass man doch die Ergebnisse verschiedener Autoren nebeneinanderstellen und miteinander vergleichen darf, kommt daher, dass bisher die Fragestellung im allgemeinen ganz elementar war und meistens nur eine eventuelle Zu- oder Abnahme des gesamten durch saure Hydrolyse zutage tretenden reduzierenden Vermögens betraf. Dabei sind fast immer vom betreffenden Autor mit der gleichen Methodik genügend Kontrollversuche angestellt worden an normalen Tieren; deshalb kommt es weniger auf die absoluten als auf die relativen Werte an, und dieses gegenseitige Verhältnis scheint bei den verschiedenen Methoden unter verschiedenen physiologischen und pathologischen Umständen in befriedigender Weise übereinzustimmen.

## B. In den übrigen Körperflüssigkeiten.

Anhangsweise können wir noch erwähnen, dass Glassmann sein Verfahren auch bei Cerebrospinalflüssigkeit verwendet hat (232); er fand, als Mittel von 47 Analysen, einen Gesamtzuckergehalt von 1,35 pro mille; davon entfiel auf die Polysaccharidfraktion seines Erachtens 0,85 pro mille, als Glucose berechnet; „Eiweisszucker“ kommt hier nach ihm kaum in Frage, da der Liquor nur sehr wenig Eiweiss enthält. Im Liquor von Syphilitikern war nur in 3 von 50 untersuchten Fällen der Gesamtzuckergehalt beträchtlich erhöht; von einem Zusammenhang mit Mastix- oder Wassermannreaktion oder Leukocytenzahl zeigte sich nichts.

Randoin (453, S. 211) fand mit ihrer Hydrolysemethode bei Rindern nur 0,03—0,04 pro mille, bei Pferden 0,08—0,12 pro mille Hy-S, als Glucose berechnet.

Ganz im Gegensatz zu den obenstehenden Autoren konnte Condorelli (125), mit einer anderen Hydrolysemethode (s. S. 33) arbeitend, im Liquor weder bei normalen Individuen noch bei einem Fall von tuberkulöser Meningitis die Anwesenheit von Hy-S feststellen. Dasselbe negative Ergebnis erhielt Bordet (84) in seinem einzigen untersuchten Falle.

Hingegen fand Condorelli (l. c.) beträchtliche Hy-S-Werte in Lymphe (130) und in Exsudaten und Transsudaten, wie Ascites- und Pleuritisflüssigkeit (125).

Der Vollständigkeit halber erwähnen wir zum Schluss noch eine Fraktion des „gebundenen Zuckers“, der mit all den oben besprochenen nichts zu tun hat und nur scheinbar hierher gehört. Seinerzeit hat Condorelli (132, 135) gefunden, dass unter der kombinierten Einwirkung von Uranylacetat und Sonnenlicht die Eiweissstoffe des Blutes eine etwa 0,20—0,40 pro mille Glucose entsprechende Menge reduzierende Substanz in Freiheit setzen, wahrscheinlich als Folge einer photokatalytischen Oxydation (daneben besteht aber die durch Säure spaltbare Hy-S unvermindert fort).

Dies war eine Bestätigung von älteren Versuchen von Neuberg (406) über die kombinierte Einwirkung von Sonnenlicht und Uransulfat. Schon 1908 sah dieser Autor in dieser Weise aus sehr einfachen Bausteinen, die keinesfalls mit unserer Hy-S identisch sein können, allerhand reduzierende Substanzen, niedere Zucker usw. entstehen, die er auch chemisch identifizieren konnte.

### C. In enteweissten Blutextrakten.

Dass entweistes Blut, mit Säure hydrolysiert, eine Zunahme seines reduzierenden Vermögens zeigen kann, ist von der einen Seite heftig verneint, von der anderen aber ebenso energisch aufrechterhalten worden. Man hat hier die Ursache für die Kontroversen zu suchen in der Wahl des enteweisenden Reagens; erstens wird das eine das Eiweiss vollständiger entfernen als das andere, und zweitens wird das eine auch mehr begleitende Substanzen mitreissen als das andere. Weiter hat auch die Technik der Hydrolyse grossen Einfluss auf das Endergebnis.

Wir müssen dies alles so ausführlich besprechen, weil es als Argument in der „Eiweisszucker“frage von so ausschlaggebender Bedeutung ist.

Als einer der ersten hat Pavy (433, S. 64) defibriniertes Blut dreimal hintereinander, jedesmal einen ganzen Tag, mit Alkohol ausgezogen. Dann wurden die Extrakte vereinigt, mit Essigsäure angesäuert, nach Erwärmen heiss filtriert und auf dem Wasserbade oder in vacuo bei 55—60° auf ein kleines Volumen eingeeengt. Sobald dies erreicht war, wurden die gefärbten und fettartigen Verunreinigungen entfernt durch kurzes Aufkochen mit Natriumsulfat oder (in den späteren Untersuchungen) mit Aluminiumhydroxyd.

Dieses elegante Verfahren (vgl. Willstätter-Kraut) besteht aus folgendem:

Aus Kalium- oder Ammoniakalaun wird durch Zusatz von Ammoniak Aluminiumhydroxyd niedergeschlagen. Man wäscht dies aus bis alle Verunreinigungen, besonders alles Ammoniak, entfernt sind; so wird die Masse, als Paste, in verschlossenen weithalsigen Flaschen gebrauchsfertig aufbewahrt.

Den eingeeengten zuckerhaltigen Extrakten setzt man nun etwas von dieser Paste zu und kocht das Ganze einen Augenblick gut auf; das Aluminiumhydroxyd verliert seine gelatinöse Beschaffenheit, präcipitiert und reisst nun alle Verunreinigungen mit. Dann filtriert man und wäscht den Niederschlag gegebenenfalls gut aus; das erhaltene Filtrat ist fast vollkommen farblos und wasserklar.

In solch klaren Filtraten wurden nun von Pavy Bestimmungen des reduzierenden Vermögens vorgenommen vor und nach Hydrolyse mit Säure. Anfänglich wurde 2%ige  $H_2SO_4$  verwendet; dabei zeigten die Filtrate von normalem Blut wenig oder gar keine Zunahme ihres reduzierenden Vermögens (433, S. 155). Als er aber später zur Überzeugung gelangte, dass sowohl die Schwefelsäure als die Erhitzung im Autoklaven bei  $150^0$  keineswegs gleichgültig waren, und er anstatt dessen mit HCl am Rückflusskühler hydrolysierte, waren regelmässig die nach der Hydrolyse erhaltenen Werte höher als vor dieser Bearbeitung (437). Als Beispiel folgen hier einige von seinen Zahlen (434, S. 15; 360):

Hydrolyse des alkoholischen Blutextraktes.

Tierart	Physiologischer Zustand	Anzahl Tiere	Vor Hydrolyse pro mille	Zunahme durch Hydrolyse in pro mille	%
Kaninchen, Herzblut . . . . .	Normal	12	1,09	0,40	37
„ „ . . . . .	Hungernd bis Leber nahezu glykogenfrei	6	1,21	0,43	36
Katze . . . . .	Normal	6	0,88	0,26	30
„ . . . . .	Hungernd bis Leber nahezu glykogenfrei	2	1,10	0,05	5
Hund . . . . .	—	1	0,86	0,44	51
Pferd . . . . .	—	1	1,16	0,39	34

Wie wir später ausführlicher besprechen werden, haben wir selbst diese Methode auf Rinderblut angewandt, und gleichfalls bisweilen eine erhebliche Zunahme des reduzierenden Vermögens der alkoholischen Extrakte durch Hydrolyse mit Salzsäure feststellen können.

Aus der Tabelle ersieht man, dass die so erhaltenen Werte nicht viel niedriger sind als die, welche man bei den üblichen Hydrolysen von Vollblut mit irgendeiner verdünnten anorganischen Säure erhält (s. später S. 188). Doch sah Pavy selber, wie schon erwähnt, bei Hydrolyse der alkoholischen Auszüge mit verdünnter HCl oder  $H_2SO_4$  im Autoklaven bei  $150^0$  kaum Erhöhung des reduzierenden Vermögens auftreten, so dass er anfangs sogar für Normalblut jede Steigerung verneinte (433, S. 155). Wie ist dies zu erklären? Pavy (436) selber dachte anfänglich an einen hemmenden Einfluss des Sulfations, aber uns scheint es wahrscheinlicher, dass im Extrakt die jetzt nicht mehr durch das viele Bluteiweiss in ihrer Wirkung abgeschwächte  $H_2SO_4$  ihre volle destruierende Tätigkeit entfaltet. Dass diese nicht gering ist, erweist ein Versuch von Glassmann (230); beim Erhitzen einer 1%igen Glucoselösung mit 5%  $H_2SO_4$  im Autoklaven (Temperatur nicht erwähnt!) war nach 4 Stunden, berechnet nach dem reduzierenden Ver-

mögen, nur noch 30% der ursprünglich vorhandenen Glucose zugegen. Daneben kann man die Versuche von Krok (298) zitieren, bei denen sich zeigte, dass eine Glucoselösung von physiologischer Konzentration (1 pro mille) durch Hydrolyse mit 1%iger Salzsäure auf dem kochenden Wasserbade während einer Stunde keine Verluste erlitt, dass aber nach anderthalb Stunden schon 12—15% verschwunden waren. Auch bei Hydrolyse von Amylum fand er den Zucker nicht quantitativ zurück; die Werte waren am höchsten nach 15 Minuten Hydrolyse.

Weiter scheint neben der Säure auch die Erhitzung als solche schon Verluste herbeizuführen. So gibt Pavy (435) folgende Beispiele, erhalten nur nach kräftigem Sieden mit Wasser:

1 l der Zuckerlösungen enthielt nach der „Glucose“titration:

(Zucker aus Honig) . . . . .	zuvor 0,595 g, nach 12stündigem Kochen	0,271 g
(Chemisch reine Glucose) . . . . .	„ 1,146 g „ „ „	0,558 „
(Zucker aus diabetischem Harn) . . . . .	„ 0,555 g „ „ „	0,236 „

Daneben bräunten sich die Lösungen. Bei gelindem Durchkochen waren die Verluste geringer.

Übrigens verdient es Beachtung, dass Pavy schon zu einer Zeit, da er noch das ungeeignete  $H_2SO_4$ - $Na_2SO_4$ -Verfahren verwandte (433, S. 101 usw.), im alkoholischen Extrakt von Pfortaderblut bei hungernden Tieren wohl eine Zunahme des reduzierenden Vermögens durch saure Hydrolyse regelmässig beobachten konnte, daß aber diese Erscheinung im übrigen Körperblut bei gleicher Technik fehlte. Bei mit Fleisch oder Kohlenhydraten genährten Tieren war diese Zunahme im allgemeinen noch stärker.

Mme. Randoïn (453, S. 174) gibt an, die Methode der Enteiweissung mit Alkohol versucht, aber nie eine Spur von Reduktionszunahme durch saure Hydrolyse des alkoholischen Extraktes beobachtet zu haben. Das wird wohl die Folge einer fehlerhaften Wahl von Säure und Temperatur sein, sowie auch Pavy selbst anfänglich aus gleicher Ursache ebenfalls negative Ergebnisse an Normalblut erhielt.

Auch Fr. Stasiak (501) erprobte die Pavy-Methode, meinte aber feststellen zu können, dass dabei das Eiweiss ungenügend entfernt wurde, weil die Sulfosalicylreaktion positiv blieb. Tatsächlich beobachtete sie eine geringe Zunahme des reduzierenden Vermögens nach der Hydrolyse, aber da diese geringer war als die nach anderen Methoden erhaltene, hat sie diese Technik bald wieder verlassen. Übrigens scheint uns fraglich, ob die Sulfosalicylreaktion so spezifisch ist, dass in einer so zusammengesetzten Flüssigkeit, wie es diese Blutextrakte sind, eine eventuelle Trübung ohne weiteres ausschliesslich als Eiweiss gedeutet werden darf.

Cooper und Walker (143, 144) fanden in Menschenblutextrakten, erhalten nach der älteren Pavy-Methode mittels Alkohol- $Na_2SO_4$  oder nach Maclean mit  $Na_2SO_4$  und kolloidalem Eisenhydroxyd, nur dann und wann

eine Zunahme des reduzierenden Vermögens durch Aufspaltung mit Säure; hierzu ist aber zu bemerken, dass sie nicht weniger als 4 Stunden lang hydrolysierten und deshalb reichlich Gelegenheit zur Zerstörung gaben, — und dies, obwohl sie selbst in Kontrollversuchen festgestellt hatten, dass Glucose durch Kochen mit  $n/10$ -HCl oder  $n/10$ - $H_3PO_4$  teilweise zerstört wird. Scheinbare Verluste sollen ausserdem nach ihnen dadurch möglich sein, dass NaCl, bei der Neutralisation gebildet, die Reduktion der Kupferlösung beeinträchtigen könne.

Diese Autoren glauben auch festgestellt zu haben, dass die Hy-S (d. h. offenbar der in Alkohol lösliche Teil derselben) bisweilen ganz, bisweilen teilweise dialysierbar sei.

Pavy und Siau (437, 438) haben versucht, aus dem eingeeengten alkoholischen Extrakt von Pferdeblut, das nicht mit Aluminiumhydroxyd behandelt war, Osazone herzustellen. Wurden 40 ccm dieses Extractes (gleich 800 ccm Blut) mit 0,5 g Phenylhydrazin, gelöst in 5 ccm 30%iger Essigsäure, während  $1\frac{1}{2}$  Stunden auf dem Wasserbade erhitzt, dann entstand eine grosse Menge Krystalle (A); beim langsamen Abkühlen setzte sich eine weitere Menge von Krystallen (B) ab. Die Krystalle A hatten die Form des Phenylglucosazons und schmolzen, aus Aceton umkrystallisiert, bei  $203^\circ C$ . Die Krystalle B hingegen wurden mit kaltem Wasser gewaschen und während einer Viertelstunde in heissem Wasser suspendiert; dabei löste sich alles, mit Ausnahme eines kleinen Rest C, der nach Reinigung aussah wie Glucosazon, aber bei  $193^\circ C$  schmolz. Die heisse Lösung der Krystalle B wurde langsam gekühlt; dabei setzte sich ein hellgelber krystallinischer Niederschlag ab, bestehend aus sphärischen Aggregaten von Nadeln. Dieser Niederschlag wurde wiederholt aus heissem Wasser umkrystallisiert, ohne dass sich dabei die Krystallform änderte. Beim Trocknen auf Porzellan aber sinterte es zu einer orangebraunen Masse zusammen. Der Schmelzpunkt dieser Krystalle war 157 bis  $158^\circ$ . Eine andere Portion des gleichen, nicht mit Aluminiumhydroxyd behandelten, alkoholischen Blutextractes wurde noch weiter eingeeengt und dann mit wasserhaltigem Äther zwecks Isolierung etwa vorhandenen Jecorins ausgezogen. Es wurde hiervon aber keine Spur gefunden, obwohl die Temperatur des Präparates  $40^\circ$  nie überstiegen hatte. Aus der mit Äther extrahierten Masse wurden wieder dieselben Osazone, wie oben erwähnt, erhalten. Pavy empfiehlt möglichst wenig Phenylhydrazin zu verwenden; nimmt man zuviel, so krystallisiert das Osazon vom Schmelzpunkt  $157$ — $158^\circ$  nicht aus.

Mit kolloidalem Eisenhydroxyd enteiweisste Blutfiltrate sind gleichfalls wiederholt Gegenstand von ähnlichen Versuchen gewesen. Soeben erwähnten wir schon die positiven Ergebnisse von Cooper und Walker (143, 144). Auch Stasiak (501) hat die Mehrzahl ihrer Versuche nach dieser Methodik ausgeführt. In den meisten Fällen fand auch sie in den eiweisfreien

Filtraten nach saurer Hydrolyse ein höheres Reduktionsvermögen als zuvor; diese Zunahme betrug sogar 0,36—1,19 pro mille, war also keineswegs zu vernachlässigen. Dem stand aber gegenüber, dass in anderen Fällen eine Erniedrigung, offenbar durch Zerstörung, sich zeigte. Auch sie versuchte, die in Frage stehende Substanz näher zu identifizieren, und erhielt tatsächlich Osazone; es gelang ihr aber nicht die chemische Natur dieser Verbindungen weiter aufzuklären, nur konnte sie sagen, dass offenbar Maltose abwesend war. In Kontrollversuchen zeigte sich, dass absichtlich zugesetztes Dextrin von kolloidalem Eisenhydroxyd garnicht gefällt wurde, Stärke und Glykogen nur teilweise. Ganz negative Ergebnisse hatte mit der beschriebenen Methode von Körösy (292) erhalten, aber nur an zwei Blutproben; mit diesem negativen Befund brauchen wir also nicht zu rechnen.

Frank und Bretschneider (211) haben das kolloidale Eisenhydroxyd in ihren Untersuchungen an gewaschenen Erythrocyten benutzt; im eiweissfreien Filtrat fanden sie dann gleichfalls eine Hy-S (s. auch S. 48).

Natriumwolframat wurde früher von Cammidge (110) mit Erfolg angewandt. Später hat er an dessen Stelle die Phosphorwolframatlösung nach Folin und Wu gewählt, und den mit dieser Methode gewonnenen Ergebnissen sogar ein ganzes Buch (112) gewidmet! Er hydrolysiert die so erhaltene eiweissfreie Lösung mit verdünnter Salzsäure (112, S. 332) und findet dann im Normalblut von fastenden Individuen nur sehr geringe Zunahmen des reduzierenden Vermögens (0,02—0,08 pro mille), bei verschiedenen krankhaften Zuständen aber erhebliche Steigerungen. Dies hat ihm sogar ermöglicht, verwickelte diagnostische Probleme zu lösen. Darauf kommen wir im diesbezüglichen Kapitel noch zurück.

Dieselbe Methode zur Entfernung des Eiweisses verwandten auch Mc. Cormick und Macleod (151) in ihren Untersuchungen am Blut verschiedener Fische. Hydrolysierten sie dann die eiweissfreien Filtrate mit 2<sup>0</sup>/<sub>0</sub>iger Salzsäure, dann waren die Ergebnisse oft gleichfalls unzweideutig, wie aus untenstehender Tabelle ersichtlich:

	Vor Hydrolyse	Nach Hydrolyse
Skate ( <i>Raja</i> sp.) . . . . .	0,30 pro mille	0,40 pro mille
Sculpin ( <i>Myoxocephalus octodecimspinosus</i> und <i>M. scorpius</i> )	0,34 „ „	0,22 „ „
	0,34 „ „	0,42 „ „
	0,61 „ „	1,04 „ „
Haddock ( <i>Melanogrammus aeglefinus</i> ) . . . . .	0,46 „ „	0,65 „ „
	0,83 „ „	0,86 „ „
Flounder ( <i>Pseudopleuronectes americanus</i> ) . . . . .	0,36 „ „	0,51 „ „
	0,57 „ „	0,64 „ „
Sea Raven ( <i>Hemitripterus americanus</i> ) . . . . .	0,53 „ „	0,60 „ „
Wolf-fish ( <i>Anarhichas lupus</i> ) . . . . .	0,14 „ „	0,36 „ „
Cod ( <i>Gadus callarias</i> ) . . . . .	0,70 „ „	1,05 „ „

Die Autoren geben aber zu, dass im nicht enteiweissten Blute die Zunahme durch saure Hydrolyse doch viel erheblicher war. Best (29a) hat Rinderblut zuerst durch Kochen mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4\text{-HCl}$ , dann mit Phosphorwolframsäure enteiweisst, und dann die Flüssigkeit hydrolysiert, teils durch 7 Minuten dauerndes Kochen mit 1%  $\text{HCl}$ , teils durch 10 Minuten Kochen mit 2% iger Citronensäure. Im ersten Falle betrug die Reduktionszunahme im Mittel etwa 0,02 pro mille, im zweiten kaum 0,01 pro mille. Die in Freiheit gesetzte reduzierende Substanz zeigte sich durch die Hefeart *Torula monosa* vergärbbar. Dabei bemerkt der Autor, dass die von ihm konstant im Blute aufgefundene Laktose an diesen Erscheinungen nicht schuld sein kann, weil sie durch Citronensäure garnicht, durch Mineralsäure erst nach mehrstündigem Kochen in ihre Komponenten gespalten wird. Wurde das Blutdekot länger hydrolysiert, so war die Ausbeute grösser, qualitativ aber blieb das Ergebnis dasselbe. Es gelang angeblich einige Male, aus dem zuerst mit *Torula monosa* vergorenen und dann hydrolysierten Dekot Phenylglucosazon herzustellen. Bei Kontrollversuchen zeigte sich aber leider, dass diese Substanzen zum Teil vielleicht auch von der Hefe abstammen konnten.

Kochende Natriumsulfatlösung hat Lépine [zit. nach Stasiak (501)] zur Entfernung des Eiweisses zur Hilfe genommen; auch in den so erhaltenen Filtraten soll sich eine Hy-S vorgefunden haben.

Quecksilbersalze (-nitrat, -acetat, Sublimat) hingegen sollen nach den meisten Autoren nicht nur das Eiweiss, sondern auch allerhand andere höhermolekulare Substanzen so vollständig niederschlagen, dass keine Spur einer Hy-S ins Filtrat übergeht. Das wurde wenigstens regelmässig gefunden von Stasiak (501), Gutmann und Adler (244), Bierry (56), Randoin (453), Bordet (84). Doch erscheint es sehr gefährlich, dies als ein Argument für die „Eiweisszucker“-natur der Hy-S gelten zu lassen. Gutmann c. s. (l. c.) fanden z. B., dass dem Blute zugesetztes Glykogen von Sublimat niedergeschlagen wird. Im allgemeinen ist das Präcipitieren mit Quecksilbersalzen mehr eine allgemeine Eigenschaft kolloider Substanzen als ein spezifisches Reagens auf Eiweiss, und ausserdem wissen wir auch von zahlreichen nichtkolloiden Stoffen, dass sie oft an einem in ihrer Nähe präcipitierenden Kolloid festhaften.

Dasselbe Bedenken kann man anführen gegen die ähnliche Auslegung der Versuche von Condorelli (125, 126), bei denen die mit Uranyl nitrat enteiweissste Flüssigkeit durch Hydrolyse keine Steigerung ihres reduzierenden Vermögens zeigte.

Aber daneben besteht noch eine zweite Möglichkeit, und zwar die, dass alle die genannten Forscher durch zu kräftige Hydrolyse eine nicht vom Schwermetallsalz präcipitierte Hy-S zerstört haben. Auf diese Möglichkeit weisen zahlreiche Versuche von Lépine und Boulud hin, die sich

diesem Gegenstand jahrelang gewidmet haben (339, 340). Ihre Ergebnisse verdienen wohl eine etwas ausführlichere Besprechung, um so mehr als sie Gegenstand lebhafter Kontroversen gewesen sind, die aber offenbar vielfach mehr persönlich als sachlich waren, und teilweise auch in Missverständnissen ihre Erklärung fanden. Ganz kurz waren ihre Ergebnisse folgende: Das nach Hydrolyse bestimmte Reduktionsvermögen der im enteweissten Blute noch vorhandenen hydrolysierbaren Substanzen überstieg oft das des freien Blutzuckers quantitativ bei weitem. Ohne vorheriger Hydrolyse sind sie teils wohl (A), teils nicht (B) imstande, Fehlingsche Lösung zu reduzieren. Gruppe B wird erst reduzierend, wenn sie einige Zeit mit einer schwachen Säure bei 100° hydrolysiert wird. Sowohl die Substanzen der Gruppe A als die von B sind linksdrehend.

Ihre Methodik war folgende:

30 g Blut wurde direkt aufgefangen in 20 ccm Mercurinitratlösung; man zerrieb die gebildeten Koagula zu einer homogenen Paste, setzte dann 100 ccm Wasser zu und rührte. Nach einer halben Stunde wurde mit NaOH genau neutralisiert, filtriert, das Gerinnsel ausgepresst und die Flüssigkeit einige Zeit mit Zinkpulver in Berührung gelassen zur Entfernung der Quecksilberreste. Wiederum wurde filtriert, und schliesslich engte man die erhaltene Flüssigkeit, nachdem etwas Essigsäure zugesetzt war, auf dem nichtkochenden Wasserbade ein: so sollen auch die Substanzen der Gruppe A ungespalten bleiben.

Man entdeckt die Anwesenheit von Gruppe A (im enteweissten Filtrat also!) durch die Differenz zwischen Reduktions- und Rotationswert (dieselbe Tatsache also, die so viele Jahre später als Motiv für die Annahme der Neo- bzw.  $\gamma$ -Glucose dienen sollte!).

Nur bei starker Hyperglykämie soll Gruppe A gegenüber der Glucose prozentual so sehr in den Hintergrund treten, dass dann Reduktion und Rotation besser übereinstimmen (vgl. wiederum mit der Annahme von  $\alpha$ - $\beta$ -Gleichgewichtsglucose bei Diabetikern nach späteren Autoren!). Lépine gelang es nicht die Komponenten der Gruppe A näher zu identifizieren; deshalb erkennt er auch sein Unvermögen, sie quantitativ zu bestimmen.

Die Substanzen von Gruppe B erkennt man nach Lépine folgenderweise:

Das in obenstehender Weise enteweisste Filtrat wird in einer zugeschmolzenen Glasröhre mit einer schwachen Säure eine bestimmte Zeit auf 110 oder 115° erhitzt; dann bestimmt man aufs neue sein reduzierendes Vermögen. Dies ist meistens höher als zuvor; dies erweist nach Lépine die Anwesenheit von Substanzen von Gruppe B.

Bisweilen aber ist die erhaltene Zahl niedriger als zuvor, dann hat man zu roh gearbeitet und reduzierende Substanz zerstört. Man erhitzt entweder zu viel oder zu wenig; die erhaltenen Zahlen sind also, wie Lépine selbst nachdrücklich hervorhebt, immer nur annähernd richtig. Dies gilt also für alle Hydrolysen!

Mit Salzsäure oder Schwefelsäure sind nach seiner Erfahrung die Chancen noch viel grösser, dass man reduzierende Substanz zerstört. Weinsäure ist in dieser Hinsicht am besten, hat aber den Nachteil, dass es optisch aktiv ist, so dass man nachher die Rotation nicht mehr bestimmen kann. [Man erhitzt

10 ccm Extrakt (aus 10 ccm Blut), mit 5 ccm 20%iger Weinsäurelösung im zugeschmolzenen Glasrohr während  $\frac{1}{4}$ — $\frac{3}{4}$  Stunden auf 120°].

Gruppe A soll immer im Blut anwesend sein, B fehlt dann und wann. Ein einziges Mal wurde nur B angetroffen. Bei einem bestimmten Individuum können nach Lépine c. s. innerhalb kurzer Zeit beträchtliche Verschiebungen zwischen diesen beiden Gruppen stattfinden, so z. B. nach Blutverlusten. Bei vollkommen gesunden, noch nie zu Experimenten verwendeten Hunden, genährt mit rohem Pferdefleisch, bilden derartige Substanzen einen beträchtlichen Teil des Gesamtzuckergehaltes des Blutes; Lépine c. s. geben einige Beispiele, wo bei starkem reduzierenden Vermögen des enteweißten Blutfiltrates die optische Rotation immer gleich Null war! Bei Tieren in schlechtem Ernährungszustand beobachteten sie bisweilen Rechtsdrehung.

Nach Lépine befinden sich die betreffenden Substanzen hauptsächlich in den Erythrocyten, und kaum oder gar nicht im Plasma. Venöses Blut soll weniger von den Substanzen der B-Gruppe enthalten als arterielles; während also offenbar in den Capillaren diese Substanzen ausgiebiger abgebaut werden als die anderen Zuckerderivate, sollen sie in vitro bei der Glykolyse mehr widerstandsfähig sein oder vielleicht sogar sich auf Kosten der freien Glucose bilden, andererseits aber doch schliesslich wieder zerstört werden. [Man sieht, dass Lépine die später noch zu besprechenden zwei Phasen der Glykolyse (s. S. 148) wohl als erster erkannt hat.] Lässt man Blut bei 39° eine Stunde stehen, dann nimmt oft sein Hy-S-Gehalt beträchtlich zu, während die freie Glucose vollkommen oder nur teilweise verschwunden ist. Bisweilen verschwinden sie unter diesen Umständen beide vollständig, so dass man dann sowohl vor als nach Hydrolyse das Reduktionsvermögen gleich Null findet.

Bis hierhin Lépine. Wenn wir hier sofort unsern eigenen Kommentar zufügen dürfen, so möchten wir erstens betonen, dass viele von seinen Versuchen betreffs der Glykolyse nicht unter den aseptischen Kautelen gemacht sind, die man in einer modernen Untersuchung fordern musste; der Einwand hat wohl keine grosse Bedeutung, da das Endergebnis auch unter solchen Bedingungen später wiederholt bestätigt worden ist (siehe S. 148).

Zweitens schreiben die Autoren alle die genannten Erscheinungen auf Rechnung der Glykuronsäure und ihrer Verbindungen, ohne dass diese von ihnen je in Substanz isoliert oder durch bestimmte Reaktionen identifiziert wurde. Insofern scheint die Opposition von Bierry c. s. (41) vollkommen berechtigt.

Doch hätte möglicherweise Lépine auch mit seiner Auslegung, wenigstens teilweise, Recht, dass tatsächlich Glykuronsäureverbindungen an den von ihm beschriebenen Erscheinungen beteiligt sind. Er selbst schränkte auch seine Ansicht darauf ein (342), dass die im Blute anwesende Menge Glykuronsäure nur gering ist, viel geringer jedenfalls als er einige Jahre vorher meinte, als er sämtliche bei saurer Hydrolyse freikommende reduzierende Substanz

als Glykuronsäure betrachtete. In einem späteren Kapitel kommen wir hierauf noch näher zurück (s. S. 180).

Eins geht aus all dem Obenstehenden wohl unzweideutig hervor: unrichtig ist in ihrer Allgemeinheit die von Bierry immer verteidigte Meinung (56), dass enteweisstes Blut bei saurer Hydrolyse nie eine Zunahme seines reduzierenden Vermögens zeigen soll. Seine Schülerin Mme Randoin (453, S. 170) hatte diese Behauptung noch dahin erweitert, dass nie eine Zunahme auftreten soll, mit welchem Reagens man auch das Eiweiss entfernt habe (Mercuriacetat, Alkohol, Trichloressigsäure oder Natriumsulfat plus Essigsäure).

Dies war der Grund, weshalb sie meinten, dass nur der „Eiweisszucker“ bei der Hydrolyse reduzierende Substanz lieferte, und daneben keine hydrolysierbare Polysaccharide oder Glucoside in Frage kommen könnten.

Wir wollen keineswegs behaupten, dass dies wohl der Fall sei, aber die experimentellen Beweise für das Gegenteil sind zweifellos wertlos. Woher kommt dies? Wahrscheinlich sind sie die Folgen kleiner technischer Unvollkommenheiten: So hydrolysierten sie auch in diesen Versuchen mit den starken Mineralsäuren, oft sogar mit Schwefelsäure, im Autoklaven. Es ist durchaus denkbar, dass dabei die Säure, nicht mehr gepuffert durch das viele Eiweiss, ihre volle destruktive Wirkung entfaltet hat; daran wird kaum etwas geändert durch die Tatsache, dass sie die Menge Säure etwas variiert haben.

Auch ein Beitrag wie der von Krok (298) hat für die Lösung des Problems nur beschränkten Wert. Einmal ist ein prinzipieller Fehler, dass er das Blut zuerst aufsaugte in Filtrierpapier (hydrolysierbare Cellulosederivate!) und dann in der Bangschen Salzlösung extrahierte, also in einer Flüssigkeit, die kein weiteres Auswaschen der im Innern der Koagula aufgeschlossenen Masse gestattete; ferner ist die Tatsache, dass er mit einer für solche orientierende Versuche viel zu geringen Menge Blut arbeitete und nur ganz wenige Experimente ausgeführt hat, wohl genügender Grund, von Besprechung seiner negativen Ergebnisse Abstand zu nehmen.

Weiter muss man noch im Auge behalten, dass die älteren Forscher in ihrer Arbeit durch das Fehlen guter Mikromethoden beeinträchtigt waren. Und schliesslich haben die meisten von ihnen normale Individuen untersucht, während wir jetzt aus den Versuchen von Cammidge u. a. wissen, dass gerade in pathologischen Fällen die Ausschläge am deutlichsten sind (112).

## **D. Verteilung zwischen Erythrocyten und Plasma bzw. Serum.**

Schon im vorangehenden haben wir einigemal die Frage gestreift, wie die Verteilung der Hy-S zwischen den verschiedenen Bestandteilen des Blutes nach der Meinung verschiedener Autoren sein soll (S. 43, 46). Hier geben wir noch einige weitere diesbezügliche Daten.

Nach Hynd (272) nimmt das reduzierende Vermögen der Erythrocyten durch saure Hydrolyse in viel stärkerer Masse als das des Plasma zu,

sowohl vor als nach Insulinverabreichung. Auch Lépine (325) hatte früher schon gefunden, dass im Verhältnis zum freien Zuckergehalt die Erythrocyten mehr „gebundenen Zucker“ enthalten als das Serum.

Demgegenüber meinten Bierry c. s. (36, 58, 453, S. 225), dass die Erythrocyten gerade weniger freien und auch weniger „gebundenen“ Zucker enthalten sollten als das Plasma, obwohl die absolute Menge auch in den Erythrocyten doch noch beträchtlich sein sollte.

Nach Folin (202) nimmt durch Hydrolyse der Plasmazucker gewöhnlich ab, während das reduzierende Vermögen der Erythrocyten im Gegenteil steigt. Bei Hydrolyse von Vollblut hängt es deshalb seines Erachtens davon ab, wie diese entgegengesetzt gerichteten Folgen sich untereinander verhalten, ob der Enderfolg Zunahme oder Abnahme des reduzierenden Vermögens ist. Meyerhof und Lohmann (393) fanden bei saurer Hydrolyse von Serum eine geringe Zunahme des reduzierenden Vermögens.

Wahrscheinlich sind diese sehr strittigen Ergebnisse von verschiedenen Faktoren abhängig: erstens davon, ob frisches oder älteres, schon teilweise „glykolyisiertes“ Blut verwendet wurde; zweitens von der Technik, und zwar ob die Hydrolyse schonend war, oder weitgehende Zerstörung ermöglichte. Drittens ist vielleicht auch noch die Tierart von Bedeutung.

Die wichtigsten Versuche auf diesem Gebiet sind von Frank und Bretschneider (211) ausgeführt worden. Sie haben Erythrocyten sorgfältig mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, dann die Masse enteiweisst mit dem 6—7fachen Volumen kolloidalen Eisenhydroxyds, das Filtrat in vacuo bei schwach essigsaurer Reaktion eingeengt und dann das reduzierende Vermögen bestimmt vor und nach 3-stündiger Hydrolyse mit 2,2%iger Salzsäure am Rückflusskühler. Dabei stieg das reduzierende Vermögen in drei Versuchen, auf Glucose umgerechnet, von

0,0	auf 0,58	pro mille,	d. h. mit	0,22	pro mille,	auf das ursprüngliche	Blut bezogen.
0,0	„ 0,57	„ „ „ „	„ „ „	0,22	„ „ „	„ „ „	„ „
0,19	„ 0,76	„ „ „ „	„ „ „	0,21	„ „ „	„ „ „	„ „

Durch Vergärung verschwand das so zu Tage getretene reduzierende Vermögen wieder vollkommen.

In Kaninchenserum glaubten sie eine Substanz von ähnlichen Eigenschaften aufgefunden zu haben. Das Produkt der Hydrolyse ist ihrer Meinung nach sicher eine Hexose, vielleicht Glucose, möglicherweise auch ein anderer Zucker, wie z. B. Galaktose. Als mögliche Muttersubstanzen nennen sie Dextrine, Spuren Glykogen, Lecithinglucosen (Jecorin), und schliesslich Hexosephosphorsäure.

Auch Ege und Hansen (167) fanden in den Erythrocyten eine beträchtliche Menge Hy-S, deren reduzierende Komponente sie sich offenbar adsorbiert denken.

Zieht man aber zuvor die Erythrocyten mit Alkohol gründlich aus, so liefert der Rückstand bei Hydrolyse nur sehr wenig reduzierende Substanz mehr. Die Hy-S der Erythrocyten scheint also der Hauptsache nach in Alkohol löslich zu sein; demgegenüber enthalten diese Zellen aber nur maximal 5 pro mille alkoholunlösliche „Amylose“, gegenüber dem Plasma mit etwa 25 pro mille (alles auf Trockensubstanz umgerechnet) [Pavy (434, S. 44)].

#### IV. Die freien reduzierenden Substanzen der Gewebe.

Nicht nur das Blut, sondern auch die Gewebe enthalten freie reduzierende Substanzen; hinsichtlich ihrer Identifizierung kann ganz auf das betreffs der freien reduzierenden Substanzen des Blutes Gesagte verwiesen werden. Auch hier soll Glucose die wichtigste Rolle spielen, während daneben noch eine ganze Reihe anderer reduzierender Stoffe vorkommt. Die von diesen hervorgerufene Restreduktion soll bei wässrigen Extrakten von Hirn, Muskel und Niere besonders hoch sein [Cori c. s. (147)].

Es ist aber auffallend, wie gegenüber den zahlreichen „Blutzucker“-bestimmungsmethoden nur ganz wenige zur Ermittlung des „Gewebeszucker“-gehaltes stehen. Zu erwähnen sind eigentlich nur folgende (für einige wenige ältere diesbezügliche Untersuchungen sei auf Macleod (366, S. 316) verwiesen]:

Erstens nennen wir die Methode von Palmer (427). Dabei wird unter anderem das Gewebe während einiger Zeit in Wasser gekocht, so dass die Möglichkeit einer Hydrolyse nicht von der Hand zu weisen ist. Weiter gibt der Autor an, dass insbesondere Leberextrakte in vacuo behandelt werden sollen, weil sie sich sonst so stark braun färben. Mit anderen Worten: es ist noch eine andere Substanz in beträchtlicher Menge zugegen, die sich noch leichter als Glucose oxydiert, also auch eine starke reduzierende Wirkung ausüben muss. Deshalb sind die nach dieser Methode festgestellten Werte wenigstens aus einem, ja vielleicht aus zwei Gründen, zu hoch.

Eine zweite Methode ist die von Cori (148), bei der kochendes Wasser während nicht weniger als 5 Stunden auf die Gewebe einwirkt; auch diese Technik liefert also möglicherweise durch Hydrolyse zu hohe Werte.

Besser ist in dieser Hinsicht die Methode von Bernhard (26), bei der die Gewebe wiederholt mit eiskaltem Alkohol ausgezogen werden. Diese Methode haben wir selbst in unseren später ausführlich zu besprechenden Versuchen mit Erfolg verwendet.

Zum Schluss nennen wir die von Barat und Hetenyi (15) angegebene Methodik: sie verarbeiten dünne Gewebsschnitte ganz nach der von Bang zur Bestimmung des Blutzuckergehalts beschriebenen Weise. Dies ist also eine echte Mikromethode; eine ähnliche Mikrobestimmung haben auch Meyerhof und Lohmann (393) ausgearbeitet.

Inwieweit aber diese verschiedenen Methoden übereinstimmende Ergebnisse liefern hat bisher noch keiner untersucht.

Auch über die mit Hilfe dieser Methoden festgestellten Daten können wir kurz sein: bisher hat man sich eigentlich nur mit dem Einfluss einiger Hormone auf diesen Gewebsbestandteil beschäftigt.

1. Adrenalin. Nach Cori (148) regt dieses Hormon sofort die Glykogenolyse an, und setzt dabei innerhalb 30—60 Minuten schon die maximale Menge Zucker in der Leber in Freiheit; dieser wird aber erst ganz allmählich in den Blutstrom gebracht, so dass man die höchsten Blutzuckerwerte findet zu einer Zeit, in welcher der freie Leberzucker schon wieder deutlich im Sinken begriffen ist.

2. Insulin. Dieses Hormon erniedrigte in den Versuchen von Cori c. s. (147) an hungernden Leberfensterkaninchen den freien Nieren- und Leberzucker ebenso regelmässig wie den freien Blutzucker (bei verschiedenen Individuen z. B. von 4,64 auf 2,69, von 3,57 auf 2,79, von 3,12 auf 2,42 pro mille). Demgegenüber blieb in ihren Versuchen der freie Zuckergehalt von Muskeln und Gehirn unbeeinflusst (wegen Bedenken gegen ihre Methodik s. oben).

Ihre wichtigsten Ergebnisse waren folgende:

Freier Gewebszucker:	Insulintiere		Kontrollen	
	Anzahl Tiere	pro mille	Anzahl Tiere	pro mille
Leber				
Meerschweinchen, 5—17 Stunden hungernd, 1 bis 5 Stunden nach 20—40 Einheiten Insulin . . . . .	5	3,57	6	4,46
Blutzucker	—	(0,71)	—	(1,14)
Mäuse, 1—24 Stunden hungernd, 30—60 Minuten nach 0,04—0,08 Einheiten Insulin . . . . .	16	3,12	16	5,20
Blutzucker	—	(0,64)	—	(1,40)
Mäuse, 2—21 Stunden hungernd, 40—90 Minuten nach 0,04—0,08 Einheiten Insulin (andere Verarbeitungsmethode) . . . . .	7	1,67	7	3,00
Blutzucker	—	(?)	—	(?)
Mäuse, 15—24 Stunden hungernd, 25—50 Minuten nach 0,04—0,06 Einheiten Insulin:				
Muskel . . . . .	10	0,77	10	0,79
Niere . . . . .	—	0,90	—	1,26
Blutzucker	—	(0,44)	—	(1,06)
Mäuse, 17—19 Stunden hungernd, 45—65 Minuten nach 0,04 Einheiten Insulin.				
Gehirn . . . . .	4	0,37	4	0,59
Blutzucker	—	(0,42)	—	(1,32)
Kaninchen, 17—24 Stunden hungernd, 105 bis 150 Minuten nach 6—10 Einheiten Insulin				
Muskel . . . . .	4	0,94	4	0,97
Niere . . . . .	—	0,45	—	0,85
Gehirn . . . . .	—	0,36	—	0,37
Blutzucker	—	(0,42)	—	(1,13)

Es ist sehr interessant, hiermit die Werte zu vergleichen die Hetenyi (260) mitgeteilt hat:

Kaninchen, 24 Stunden hungernd. Zuckerwerte in pro mille.

Insulintiere											Kontrollen	
Vor Auftreten der Krämpfe getötet (* beim ersten Krampfanfall getötet)						In Krämpfen gestorben			Pankreaslose Katze			
Nummer der Tiere Getötet nach	12 45'	9 65'	11 95'	16 100'	8 145'	13 *185'	2	14		15		1
Leber . . . . .	8,23	5,80	7,49	4,00	0,82	1,87	4,45	5,49	6,02	5,69	7,12	5,13
Muskel . . . . .	0,52	0,41	0,51	0,44	0,64	0,29	0,36	0,47	0,40	0,53	1,44	1,27
Niere . . . . .	0,70	0,98	0,97	0,90	0,95	0,51	0,95	0,87	0,76	1,08	1,72	1,42
Gehirn . . . . .	0,39	0,71	0,40	0,44	0,83	0,40	0,59	0,63	0,63	0,72	0,65	0,93
Lunge . . . . .	0,40	0,49	0,27	0,47	0,54	0,32	1,05	—	—	0,83	1,16	—
Milz . . . . .	1,37	1,70	2,29	1,88	1,75	0,99	—	1,48	1,70	1,62	1,57	—
Herz . . . . .	1,03	1,01	1,30	1,03	0,96	0,68	1,01	0,97	0,70	—	0,63	0,76
Blutzucker	(0,49)	(0,94)	(0,61)	(0,50)	(0,36)	(0,44)	(0,42)	(0,48)	(0,11)	(0,25)	(1,03)	(1,18)

Während also Cori in Muskeln und Gehirn nach Insulineinspritzung keine Erniedrigung der freien reduzierenden Substanz beobachten konnte, hingegen wohl in Leber und Nieren, sank in Hetenyis Versuchen gerade in den Muskeln der Zuckergehalt am stärksten (schon nach 45' lagen meistens die Werte unterhalb denen des freien Blutzuckers!), verliefen die Zahlen für Gehirn, Nieren und Lunge ziemlich genau parallel damit, blieb der Leberzucker anfangs unverändert, um später mehr oder weniger zu sinken, und blieben Herz- und Milzzucker nahezu vollständig gleich. Die Ergebnisse der beiden Autoren stehen einander also ziemlich schroff gegenüber.

Von den qualitativen Untersuchungen des freien Organ,,zuckers“ sei folgendes erwähnt:

Erstens hat in der Zeit, als Lactacidogen und ähnliche Verbindungen noch vollständig unbekannt waren, Panormoff (429) rohe Muskelextrakte untersucht. Der eingeeengte Auszug vergor nicht; doch enthielt er keine hemmenden Stoffe, denn extrazugesetzte Glucose wurde glatt vergoren. Dennoch gelang es ihm, aus dem Extrakt ein „Osazon“ herzustellen, dessen Bildung erst nach 2—2½ Stunden vollendet war; es setzte sich schon in der Wärme ab und war aus kochendem 60%igem Alkohol umkrystallisierbar; die dabei erhaltenen Krystalle waren teils mit Nadeln besetzte Kugeln, teils in feine Büschel vereinigte Krystalle. Bei 193—196° (nach ihm der Schmelzpunkt von chemisch reinem Glucosazon) fingen sie an, sich zu bräunen, und schmolzen unter Gasentwicklung. Ihre chemische Zusammensetzung aber wich etwas von der des reinen Phenylglucosazons ab:

	Gefunden			Phenylglucosazon
	I	II	III	
C . . . . .	59,35	59,42	—	60,33%
H . . . . .	6,54	6,56	—	6,14%
N . . . . .	—	—	15,79	15,64%

Nach der sonderbaren Angabe des Autors näherte sich nach kurzdauernder Hydrolyse des Osazons (!) und erneuter Herstellung einer Phenylhydrazinverbindung aus dem Hydrolysat die Zusammensetzung mehr zu der von chemisch reinem Glucosazon. Aus Muskeln von Tieren, die vorher lange narkotisiert waren, war keine freie reduzierende Substanz mehr zu erhalten.

Osborne und Zobel (423) stellten aus normalen Muskeln ein Osazon von Schmelzpunkt 152—162° (abhängig von der Flüssigkeit aus der es umkrystallisiert war) dar. Sie erwarteten durch fraktionierte Krystallisation daraus Maltosazon abtrennen zu können; dies gelang aber nicht. Setzten sie aber der heissen wässrigen Lösung dieser Osazone chemisch reines Maltosazon zu, so gelang es ebensowenig, dies zurückzugewinnen; wohl fanden sie die „Isomaltose“fraktion vermehrt. Auf Grund dieser Ergebnisse nehmen sie an, dass doch im Muskel Dextrine und Maltose zugegen sind: in dieser Ansicht stützte sie noch die Tatsache, dass durch Hydrolyse mit Säure das reduzierende Vermögen zunimmt. Sie behaupten, aus der Osazonmasse aus rohen Muskeln auch Glucosazon isoliert zu haben, und zwar dadurch, dass sie das Gemisch heiss filtrierten; leider wird aber nichts Näheres über die Eigenschaften dieses Produktes mitgeteilt. Wohl sagen sie, dass die Menge des in heissem Wasser löslichen Osazons immer beträchtlich (3—20 mal) grösser ist als die des in heissem Wasser unlöslichen Glucosazons.

Griesbach (238, 239) konnte feststellen, dass nach stundenlanger Durchströmung von überlebenden Hundemuskeln mit Blut das enteweisste eingeeengte Filtrat hiervon eine auffallend niedrige optische Rotation zeigte, bisweilen sogar linksdrehend war. Diese Rotation verschwand nach Vergärung. Deshalb ist hier seines Erachtens ein linksdrehender vergärbarer Zucker zugegen, und zwar Fructose oder eine Verbindung hiervon, denn die Reaktion von Seliwanoff ist oft positiv. Die Linksdrehung trat nicht auf, wenn die Leber bei der Durchströmung eingeschaltet war; offenbar kann dieses Organ die Fructose wieder in Glucose umsetzen. Er denkt an die Möglichkeit, dass Lactacidogen die Quelle der genannten Fructose sei.

Vor kurzem hat auch Winter (536), und zwar aus rohem Muskel- und Leberpresssaft, die Phenylglucosazone hergestellt; sie sollen in ihren Eigenschaften ziemlich gut mit Phenylglucosazon übereingestimmt haben.

Ausser an Glucose hat man bei den freien reduzierenden Bestandteilen der Gewebe noch an Azetaldehyd zu denken, dessen bedeutende Rolle in den letzten Jahren dank Neubergs Abfangverfahren immer deutlicher

geworden ist. Supniewski (517) hat sich hiermit hauptsächlich beschäftigt; er konnte die Anwesenheit unter anderem in normalen Kaninchenlebern und -muskeln zeigen. Die normal vorhandene Menge stieg noch an, wenn den Tieren (Kaninchen, Hunden) vorher Insulin, gleichzeitig mit Glucose oder Fructose gegeben wurde; die erwähnten Zuckerarten allein hatten diese Wirkung nicht. Bei pankreaslosen Hunden im Gegenteil setzte Insulin den pathologisch erhöhten Acetaldehydgehalt eben herab. Dies alles ist aber nur an einer sehr geringen Zahl von Versuchstieren festgestellt worden.

Weiter fanden Channon und Marrian (116) in der Leber noch einen ungesättigten Kohlenwasserstoff unbekannter Natur; der Gehalt in Schweinsleber betrug etwa 3,6 pro mille. Auch hierauf beruht vielleicht ein Teil des reduzierenden Vermögens des sog. „freien Leberzuckers“.

Die Beeinflussung des „freien Leberzuckers“ durch Insulin haben wir soeben schon besprochen. Glucose, in Gaben von 2—2 $\frac{1}{2}$  g pro Kilogramm hungernden Kaninchen verabreicht, bewirkte eine Erhöhung, gleichzeitig mit einer Steigerung des freien Blutzuckers [Cori c. s. (147), im Gegensatz zu obigen Befunden Supniewskis]. War aber eine halbe Stunde zuvor Insulin eingespritzt worden, so sank der freie Leberzucker unter das Niveau beim Hunger, sogar wenn der freie Blutzucker etwas anstieg.

## V. Der „gebundene Zucker“ der Gewebe, mit Ausnahme des Glykogens.

Auch wenn man tierische Organe oder Gewebe mit einer Mineralsäure hydrolysiert, ist das nach richtiger Enteiweissung übrig bleibende reduzierende Vermögen höher als zuvor, und zwar meistens noch höher als dem auf anderen Wegen festgestellten Glykogengehalt entspricht. Es müssen also neben dem Glykogen noch eine oder mehrere andere Substanzen vorkommen, die gleichfalls imstande sind ein reduzierendes Hydrolyseprodukt zu liefern. Dabei haben wir in allererster Stelle zu denken an die verschiedenen Kohlenhydratphosphatverbindungen vom Lactacidogentypus, weiter an Glykuronsäureverbindungen, an Galaktolipine, bei zellkernreichen Organen auch an Nucleoproteide mit ihrer Kohlenhydratkomponente usw. Aber daneben kommen ohne Zweifel noch zahlreiche unbekanntere Substanzen vor, deren chemische Natur wir uns bei unserem jetzigen Wissen noch kaum vorstellen können.

Wir werden uns denn auch damit begnügen müssen, eine kurze Aufzählung zu geben von den verschiedenen experimentell festgestellten Tatsachen, die auf das Vorhandensein solcher Substanzen hinweisen; dabei wird dem Leser deutlich werden, dass unsere diesbezüglichen Kenntnisse noch sehr oberflächlich sind und grosse Lücken aufweisen.

Anfänglich, als man noch nicht wusste, welche grosse Rolle Bakterien bei derartigen experimentellen Arbeiten spielen können, hat man (insbesondere

Seegen) gemeint, dass z. B. zuckerfrei gemachte gekochte Leber schon ohne weiteres beim Stehen, tage- und wochenlang, zuvor gebundenen „Zucker“ abspalte und an die umgebende Flüssigkeit abgebe. Es hat sich aber später herausgestellt, dass dies auf Wirkung von Bakterien beruhte: Pavy und Siau (438) konnten zeigen, dass, wenn man absolut steril arbeitet, sogar nach sehr langem Stehen, von gekochten Organen keine Spur von reduzierender Substanz in Freiheit gesetzt wird. Nur ganz kurzdauernde Versuche aus dieser Zeit haben deshalb jetzt noch Wert; so z. B. die von Kratschmer (295), nach denen die postmortale Zuckerabspaltung am grössten ist sofort nach dem Tode, ehe noch der Glykogengehalt anfängt, nennenswert zu sinken. Dabei übertrifft ausserdem die abgespaltene Menge Zucker oft bei weitem die Summe von anfänglich vorhandenem freien Gewebezucker plus Glykogen. Dies ist der erste Hinweis, dass die noch unbekannte Grundsubstanz oft das Glykogen quantitativ bei weitem übertrifft; eine wichtige Tatsache, die wir in unseren später mitzuteilenden Versuchen vollauf haben bestätigen können.

Pavy (433, S. 186) hat als einer der ersten systematisch freien und gebundenen Zucker (Hy-S) in alkoholischen Extrakten von allerhand Geweben und Organen bestimmt. Im allgemeinen fand er, dass das reduzierende Vermögen dieser Extrakte durch die Hydrolyse um (25—)55(—120)% zunahm. Aus Muskel wurde im ganzen (1—)2—4(—9) pro mille Zucker, als Glucose berechnet, erhalten. Die höchsten Werte lieferte ein Muskel, der daneben noch den höchsten Glykogengehalt zeigte!

Pavys Ergebnisse fassen wir in folgender Tabelle zusammen:

Alkoholische Extrakte.

Tierart	Mittel aus Tieren	Freier Gewebszucker pro mille	HbS pro mille
<b>Leber (433, S. 137)</b>			
Kaninchen, normal . . . . .	6	1,76	0,56
Schildkröte . . . . .	2	1,05	0,75
Frosch . . . . .	1	1,32	0,40
Kabliau (alt) . . . . .	2	1,89	0,17
Makrel (alt) . . . . .	1	2,50	0,50
Lachs (alt) . . . . .	1	2,23	1,40
Hummer . . . . .	2	1,94	0,75
Krebs . . . . .	2	6,92	1,27
Austern . . . . .	4	0,91	1,77
Muschel . . . . .	1	0,59	1,37
<b>Muskel (433, S. 186)</b>			
Vögel . . . . .	3	1,21	1,12
Kaninchen (Pfote) . . . . .	2	1,94	1,24
Hund (Zunge) . . . . .	1	2,46	1,27
„ (Zwerchfell) . . . . .	1	1,66	0,60

Tierart	Mittel aus Tieren	Freier Gewebszucker pro mille	HbS pro mille
Muskel (433, S. 186)			
Hund (Herz) . . . . .	1	2,88	1,85
„ (Pfote) . . . . .	1	6,50	2,79
Schildkröte . . . . .	2	1,25	0,78
Frosch . . . . .	2	0,97	1,71
Fische . . . . .	7	1,23	1,27
Hummer . . . . .	6	0,78	0,81
Krebs . . . . .	2	1,49	0,46
Milz (433, S. 194)			
Schaf . . . . .	1	1,98	0,79
Hund . . . . .	3	2,32	1,15
Pferd . . . . .	1	1,32	0,31
Niere (433, S. 196)			
Schaf . . . . .	1	0,96	0,42
Hund . . . . .	2	1,40	0,60
Pferd . . . . .	2	1,23	0,62
Pankreas (433, S. 197)			
Schaf . . . . .	2	0,72	0,34
Hund . . . . .	2	1,56	0,83
Pferd . . . . .	1	1,46	1,22
Lunge (433, S. 198)			
Hund . . . . .	2	2,07	1,07
Pferd . . . . .	1	1,54	0,64
Gehirn (433, S. 199)			
Hund . . . . .	3	0,94	0,53
Placenta (433, S. 199)			
Kaninchen . . . . .	1	1,26	1,02
Hund . . . . .	1	1,46	0,00
Testikel (433, S. 200)			
Fische . . . . .	2	1,36	1,46
Krebs . . . . .	1	2,02	2,73
Ovarium (433, S. 200)			
Fische . . . . .	2	1,08	1,94
Hummer . . . . .	2	3,52	1,97
Krebs . . . . .	1	2,60	1,70
Ei (433, S. 201)			
Huhn . . . . .	3	2,36	0,00

Leider hat Pavy oft aus grossen Versuchsreihen nur einzelne Versuche ziffernmässig wiedergegeben. Deshalb ist für fast alle Fälle, wo wir oben, der Kürze wegen, „Mittelwerte“ berechnet haben, die Zahl der zugrunde liegenden Experimente viel zu gering um dies, strikt

genommen, zu erlauben. Oft sogar muss man sich mit einer einzigen Zahl begnügen, die also von der vollen individuellen Variabilität betroffen wird.

Doch glaubten wir, diese Zahlen wiedergeben und in unserer Weise berechnen zu müssen, weil sich dann etwas von höchster Bedeutung zeigt, wovon Pavvy kein Wort erwähnt: erstens kommen die im Verhältnis zum „freien Organzucker“ höchsten Werte für die Hy-S vor bei denjenigen Tierarten, die phylogenetisch am niedrigsten stehen und die niedrigste Körpertemperatur haben: also ein analoger Befund wie ihn Mme Randoïn am Blut erhoben hat (s. später S. 187). Zweitens liefern diese Versuche, bei Pavvys Technik, den wichtigen Beweis, dass der in Frage stehende Stoff, die Organ-Hy-S also, ganz oder wenigstens zum Teil, alkohollöslich ist: eine für dessen Studium ungemein wichtige Feststellung [schon 1871 hatte Hoppe-Seyler (268) aus Milz mit Alkohol eine derartige Substanz extrahiert, die im Lichte späterer Untersuchungen wahrscheinlich mit dem Galaktolipin Kerasin identisch war (Walz (532)]. Und drittens zeigt sich aus den für Gehirn gegebenen Werten, dass diese, die sicher Galaktolipine (Cerebroside) mit umfasst haben, keineswegs auffällig höher sind als die der anderen Organe, so dass man sich auch aus diesem Grunde wird fragen müssen ob nicht diese und derartige Substanzen Teil haben an der Zunahme des reduzierenden Vermögens bei Hydrolyse auch der anderen Organe.

Ausser Pavvy fanden auch andere Forscher nahezu immer eine Zunahme des reduzierenden Vermögens nach saurer Hydrolyse von tierischen Organen oder ihren Extrakten; eine Zunahme, die meistens noch bei weitem diejenige übertraf, welche man auf Grund des Glykogengehaltes erwarten konnte. Es ist gerade dieser Mehrwert, der nicht nur für uns jetzt von Interesse ist, sondern im allgemeinen, bei allerhand Untersuchungen betreffs des Kohlenhydratstoffwechsels, wohl etwas mehr Aufmerksamkeit verdiente als ihm meistens zu Teil wird. Denn ein Organ, das kein Glykogen mehr enthält, ist damit noch keineswegs all seiner Reservekohlenhydrate beraubt; bei unseren eigenen Versuchen werden wir davon später noch einige sehr überzeugende Beispiele anführen. Darauf ist schon vor vielen Jahren, unter anderem von Krawkow (297) hingewiesen worden, und, wie gesagt, geben auch die soeben zitierten Versuchsergebnisse von Kratschmer (295) schon einen Hinweis in dieser Richtung. Doch wird in praxi dies immer wieder ausser acht gelassen, vollkommen zu Unrecht. Und aus welchem hinfalligen Gründen dies geschieht, zeigt eine Äusserung von Bang (13, S. 78 usw.): er verarbeitete in zwei Versuchen Leber teils auf Glykogen, teils auf „gebundenen Zucker“, fand beide Werte gleich und betrachtete damit die Sache als erledigt!

**Methoden für die Bestimmung des „gebundenen Zuckers“ in Geweben** sind schon von verschiedener Seite veröffentlicht worden. Wir nennen die folgenden:

Loewi (355) zerkleinerte die Gewebe, kochte dann den Brei mit HCl,

liess erkalten, filtrierte, neutralisierte und behandelte die Flüssigkeit mit Mercuriacetat; danach wurde wieder neutralisiert und filtriert, wonach die Quecksilberreste mittels  $H_2S$  entfernt wurden. Nach Verjagen des  $H_2S$  wurde im Filtrat das reduzierende Vermögen nach Bertrand bestimmt.

Bierry und Gruzewska (48) zermahlen das Gewebe sofort und lassen es in einem Strahl flüssiger Luft frieren, um es so im Mörser zu einer homogenen Masse feinreiben zu können. Die weitere Verarbeitung ist eine genaue Kopie von Bierrys schon beschriebener Gesamtzuckerbestimmungsmethode im Blut (s. S. 28).

Forschbach und Schaeffer (207) haben eine Technik zur Ermittlung des Gesamtzuckergehaltes in Muskeln angegeben, die auch für andere Organe brauchbar sein muss.

Auch Cori (145, 146) arbeitete eine sehr einfache Hydrolysemethode aus, die er aber zu Unrecht als Glykogenbestimmungsmethode „by difference“ bezeichnet hat. Ein ähnliches Verfahren haben auch Bissinger und Lesser (75) angegeben.

Eine gesonderte Stelle muss man der neuerdings von Dische und Popper (158, 159) angegebenen colorimetrischen Gesamtzuckerbestimmung einräumen. Sie beruht auf der Tatsache, dass Kohlenhydrate beim Erhitzen mit Indol oder Skatol und  $H_2SO_4$  oder  $HCl$  eine violette Farbe entwickeln. Unangenehm ist aber hierbei, dass, wie die Autoren selbst zugeben, z. B. Fructose und ihre Verbindungen eine viel intensivere Farbe liefern als die gleiche Menge Glucose; ausserdem können, wie sie gleichfalls selbst erkennen, Parallelbestimmungen bis zu 12% Differenz zeigen; schliesslich soll die Farbintensität nicht der Zuckerkonzentration parallel gehen. Demgegenüber musste aber als Vorteil gelten, dass Zuckerderivate und -polymere, z. B. Glykogen, eine ebenso intensive Farbe geben sollen wie die übereinstimmende Menge Monose. So lange die Methode noch so problematisch ist, glauben wir mit ihrer blossen Erwähnung auszukommen. Burghardt und Paffrath (99, 100) haben sie auf Gewebe angewandt und sind damit zufrieden. So glaubten sie feststellen zu können, dass, obwohl schon in den ersten Sekunden nach dem Tode das Leberglykogen schnell zerfällt, der Gesamtzuckergehalt 1—2 Tagen nach dem Tode unverändert bleibt, und erst dann, unter Einwirkung der Fäulnisbakterien, allmählich abnimmt. Bei frischen Affen- und Kaninchenlebern betrug in ihren Versuchen die Differenz zwischen den so festgestellten Werten und den nach Pflüger ermittelten Glykogenwerten konstant im Mittel 2,3 pro mille, unabhängig von der Menge Glykogen, die zugegen war. Dies stimmt mit unseren eigenen Erfahrungen gar nicht überein. Später hoffen wir hierauf näher einzugehen.

2. Nach diesen Makromethoden wollen wir wegen ihrer praktischen Bedeutung in extenso die Vorschrift wiedergeben für die Mikromethode zur

## Bestimmung von freiem und Gesamtzucker in Geweben nach Condorelli (1937):

Man nimmt ein Stückchen Gewebe von etwa 300 mg Gewicht, bringt es schnell in ein trockenes Glasröhrchen, verschliesst dies sofort mit einem Gummistöpsel und wiegt das Ganze bis auf 0,1 mg genau. Dann bringt man das Gewebe in einen Mörser, und wiegt das schnell wieder verschlossene leere Glasröhrchen samt Stöpsel aufs neue: die Differenz zwischen beiden Wägungen gibt dann das Gewicht des Gewebstückchens an. Dieses wird dann in einem Porzellanmörser möglichst fein zerkleinert mit etwas Quarzpulver, das vorher wiederholt mit destilliertem Wasser ausgekocht und danach wieder getrocknet worden war. Man setzt allmählich, in kleinen Mengen insgesamt 15 ccm Aq. dest., genau abgemessen, zu, mischt gut und filtriert durch ein trockenes Filter. Vom Filtrat nimmt man, möglichst genau abgemessen, zwei Portionen zu je 5 ccm; jede davon stimmt mit einem Drittel des Gewichts des Gewebstückchens überein. Jede Portion bringt man in ein Kölblchen von 10 ccm; das eine dient zur Bestimmung des freien Gewebzuckers, das andere für die des Gesamtzuckers.

a) Bestimmung des Gesamtzuckers. Zum 5 ccm Filtrat enthaltenden Röhrchen setzt man 1 ccm  $\frac{2}{3}$  n-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> hinzu und hydrolysiert während 10 Minuten bei 1 Atm. Überdruck. Nachdem man den Druck hat absinken lassen, nimmt man das Röhrchen wieder aus dem Autoklaven heraus und lässt es weiter abkühlen; wenn es vollkommen kalt ist, setzt man 1 ccm 10%ige Natriumwolframatlösung zu, schliesst das Röhrchen, schüttelt es leise und kehrt es drei- oder viermal um. Nach 4 Stunden filtriert man durch ein angefeuchtetes Filter und wäscht Röhrchen und Filter mit 5 ccm der folgenden Lösung, die am besten jedesmal frisch herzustellen ist:

10%ige Natriumwolframatlösung . . . . .	10 ccm
$\frac{2}{3}$ n-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> . . . . .	10 „
Aq. dest. . . . .	80 „

Die gesamte Flüssigkeit wird in einem Kolben von 100 ccm Inhalt mit weitem Hals und rundem Boden gesammelt und mit 1,5 ccm einer  $\frac{2}{3}$  n-NaOH-Lösung versetzt. Dann setzt man 2 ccm n/100 KJO<sub>3</sub>-Lösung zu, welche 0,25% CuSO<sub>4</sub> enthält, und ferner 2 ccm der alkalischen K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Kaliumnatriumtartratlösung wie bei der Mikromethode von Bang. Alle die weiteren Manipulationen sind dieselben wie bei dieser bekannten Blutzuckerbestimmungsmethode.

b) Bestimmung des freien Gewebzuckers. Zum zweiten Röhrchen mit Filtrat setzt man 1 ccm der 10%igen Natriumwolframatlösung und 1 ccm  $\frac{2}{3}$  n-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> hinzu, schüttelt vorsichtig und lässt 4 Stunden ruhig stehen. Dann folgen dieselben Manipulationen wie schon für die Bestimmung des Gesamtgewebzuckers beschrieben.

Der Autor will mit dieser Methode genau übereinstimmende Doppelbestimmungen an Fragmenten desselben Gewebes ausgeführt haben. Daran zweifeln wir keineswegs; wir wissen aber aus eigener Erfahrung, dass das Natriumwolframat in Bluthydrolysaten vollkommen unbrauchbar ist, da es die in Frage kommenden Substanzen nur teilweise entfernt. Deshalb sind auch die von Condorelli in Geweben gefundenen Werte bestimmt als zu hoch zu betrachten.

Auf die in unseren eigenen Versuchen verwandte Methodik kommen wir in einer späteren Publikation zurück. Weiter unten teilen wir nur die Ergebnisse mit.

Was nun die Ergebnisse all dieser neueren Untersuchungen anbelangt, so wollen wir hier auf allgemein bekannte Tatsachen nicht näher eingehen, die in jedem Handbuch der physiologischen Chemie erwähnt werden, wie z. B. das Freiwerden von Glucose bei saurer Hydrolyse aus Glykogen, von Chondrosamin und Glykuronsäure aus Knorpel, von Galaktose aus den

Galaktolipinen (Cerebrosiden) des Gehirns. Vielmehr werden wir uns beschäftigen müssen mit der bisher noch kaum oder gar nicht klassifizierten Hy-S aus den verschiedenen Organen. Abgesehen von den bekannten Untersuchungen der Embdenschen Schule betreffs des Lactacidogengehalts der Muskeln, worauf wir weiter unten noch zurückkommen werden, hat man bisher seine Aufmerksamkeit hauptsächlich der Leber geschenkt, dem grössten Kohlenhydratdepot des tierischen Körpers.

Einer der ersten, die sich mit dieser Frage beschäftigt haben, war Delprat (155), und zwar hydrolysierte er wässrige Leberdekotte mit verdünnter Salzsäure in zugeschmolzenem Glasrohr bei 100°. Diese Tatsache verdient Erwähnung, wenn er auch nach seinen Ergebnissen in der Leber neben dem Glykogen nicht noch eine andere Substanz als Quelle des Leberzuckers glaubte annehmen zu müssen: eine Schlussfolgerung die, wie wir sehen werden, nicht für alle Fälle zutrifft.

Denn schon in einer bald folgenden Untersuchung von Röhmann und Spitzer (464) war dies wohl der Fall; diese Autoren konnten ausserdem die Sache noch dahin präzisieren, dass aus dem Hydrolysat neben Glucosazon noch ein Osazon mit niedrigerem Schmelzpunkt zu erhalten war, ihres Erachtens vielleicht das von Isomaltose.

Simon (490) gelang es sogar, aus Schweineleber die Grundsubstanz dieser nach Hydrolyse freiwerdenden reduzierenden Substanz rein, oder jedenfalls frei von Glykogen, Glucose und Jecorin, zu gewinnen, und zwar in folgender Weise:

Einige Kilogramm gemahlene Schweineleber wurden mit heissem Wasser übergossen; dann liess man sie einige Stunden ruhig stehen. Danach wurde die Masse koliert und zentrifugiert; dem klaren Zentrifugat setzte er dann das doppelte Volumen 96%igen Alkohols zu, wodurch Glykogen und Eiweiss präcipitierten, so dass sie abfiltriert werden konnten. Wurde dann dem klaren Filtrat aufs Neue ein gleiches Volumen Alkohol zugesetzt, so entstand wiederum ein Niederschlag. Dieser wurde durch wiederholtes Auflösen in heissem verdünnten Alkohol und Präcipitieren mittels Zusatz von konzentriertem, so lange bis die obenstehende Flüssigkeit (etwa 80%iger Alkohol) nicht mehr reduzierte, von allen freien reduzierenden Substanzen befreit. Daraus darf man den wichtigen Schluss ziehen, dass diese Leber-Hy-S in 80%igem Alkohol löslich ist.

Dann wurde der Niederschlag noch wiederholt mit heissem Äther gewaschen und ausgezogen, zwecks Entfernung des Jecorins.

Auch die so erhaltene, gereinigte Substanz zeigte eine stark positive Molisch-Reaktion und gleichfalls eine positive Biuretreaktion. Sie reduzierte schon ohne vorherige Hydrolyse und liess sich mit Ammonsulfat aussalzen. Ohne Hydrolyse lieferte sie kein Osazon, ebensowenig wie nach schwacher Spaltung mit verdünnter Salz- oder Essigsäure; nach Erwärmen mit 10%iger Salz- oder Schwefelsäure aber wurden mit Phenylhydrazin reichlich schöne Osazonkrystalle erhalten, die bei etwa 190° schmolzen. Das abgespaltene reduzierende Produkt vergor stark mit Hefe; die Orcinreaktion war negativ.

Nach Hydrolyse der ursprünglichen Substanz mit konzentrierter oder verdünnter Kalilauge und nachfolgender Neutralisation gelang es nicht ein

Osazon darzustellen. Nach Kochen mit starker Lauge aber entstand auf Zusatz von Alkohol ein feinflockiger Niederschlag, der, in Wasser gelöst, nicht reduzierte, nach Kochen mit verdünnter Säure aber schöne Osazone lieferte und ein starkes Reduktionsvermögen zeigte.

Auch aus frischer Leber hat Simon diese Substanz ohne vorhergehendes Kochen herstellen können; deshalb meint er, sie komme als solche in der Leber präformiert vor. Durch ihr Verhalten gegenüber Alkali usw. gleicht diese Substanz dem Glykogen und kann seines Erachtens deshalb die von der Glykogenbestimmungsmethode nach Pflüger gelieferten Werte beeinflussen. Er glaubte, sie sei eine „Glykoalbumose“; man wird sich aber fragen müssen, ob Simons Verfahren zur Entfernung des Glykogens dies tatsächlich vollständig bewirkte. War dies wirklich der Fall, so wird man diesen Befund in Beziehung bringen müssen mit Pavys Entdeckung eines solchen Stoffes im Blut, von ihm „Amylose“ genannt (s. S. 113 usw.).

Emden (172) wieder fand andere Andeutungen für das Vorkommen von weiteren Kohlenhydratreserven in Leber und Blut neben dem Glykogen. Durchströmte er Hundelebern, die ganz frei von Glykogen und nahezu vollkommen frei von Zucker waren, mit normalem Blut, so sah er doch bisweilen eine sehr beträchtliche Erhöhung des reduzierenden Vermögens des Blutes. Seines Erachtens kommt dies auf Rechnung eines noch unbekanntem Reservestoffes sowohl im Blute wie in der Leber. Dieselbe Beobachtung wurde von Lattes (314) gemacht.

Offer (421) stellte aus Pferdelebern ein N-haltiges Kohlenhydrat dar, das Pentosenreaktionen gab und nicht vor, wohl aber nach Hydrolyse mit Salzsäure reduzierte. Er glaubte, dass es Dipentosamin sei, vielleicht mit etwas beigemischt Diacetylpentosamin.

Loewit (356) erhielt aus in alkalischem Milieu gehaltenen (in 1%igem  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  in physiologischer Kochsalzlösung aufbewahrten) sterilen glykogenarmen Frosch- oder Kaninchenlebern eine kleine Menge einer wenig reduzierenden, aber stark optisch drehenden Substanz, die auch vergärbbar war; vor Hydrolyse lieferte sie ein Osazon, das erst in der Kälte auskrystallisierte, nach Hydrolyse fiel dies schon in der Wärme aus. In beiden Fällen war aber der Schmelzpunkt  $205^\circ$ . Er meint, die betreffende Substanz sei Maltose, die durch die Hydrolyse in Glucose übergehe. Auch die Krystallform wies seines Erachtens darauf hin; die verschiedenen vor der Hydrolyse erhaltenen Krystallformen gingen alle durch Umkrystallisieren aus Pikrinsäureammoniakglycerin in typische Maltosazonkrystalle über; nach der Hydrolyse wurden typische Glucosazonkrystalle erhalten.

Bierry und Gruzewska (49) hydrolysierten Lebern von einigen Tierarten unter verschiedenen physiologischen Umständen; ihre Ergebnisse waren folgende:

	Anzahl Tiere	Glykogen pro mille	Summe von freiem und gebundenem Zucker pro mille
Hund, narkotisiert . . . . .	1	52,0	20,0
Hund, künstlich abgekühlt . . . . .	1	37,0	14,0
Kaninchen, normal . . . . .	1	121,2	13,2
Huhn, normal . . . . .	1	7,8	9,0
Murmeltier, Winterschlaf (12 <sup>o</sup> ) . . . . .	1	39,5	2,9
„ „ (10 <sup>o</sup> ) . . . . .	1	42,0	0,0
Pferd, seit 3 Tagen tot . . . . .	1	22,0	26,0

Obwohl also in allen Fällen die Anzahl der Versuchstiere viel zu gering war, scheint es doch erlaubt, darauf aufmerksam zu machen, dass bei den winterschlafenden Tieren freier und gebundener Zucker in der Leber fast vollkommen fehlen, dagegen sein Gehalt unter denselben Umständen im Blute auffallend hoch sein soll (s. S. 187). Die hohen Werte beim Kadaver beruhen nach diesen Autoren wahrscheinlich auf Bildung von Glykuronsäure. In den übrigen Fällen stimmten optische Rotation und Reduktionsvermögen, wie sie sagen, vollkommen mit denen der d-Glucose überein. Zahlen, woraus dies ersichtlich ist, geben sie aber nicht.

Wie dem übrigens auch sei, dies alles liefert wiederum reichliche Hinweise, dass in der Leber ausser Glykogen noch andere zur Zuckerbildung befähigte Grundsubstanzen anwesend sind. Diese werden noch zu oft vernachlässigt, obwohl schon z. B. Seegen (485, S. 5) vor vielen Jahren daran erinnert hat, und später unter anderem Lépine (323, S. 269 usw.) diese Mahnung wiederholte. Übrigens haben, wie schon oben erwähnt, Seegens ältere Versuche jetzt zum grössten Teil ihren Wert verloren, unter anderem deshalb, weil er die Leber abkochte und den wässrigen Dekokt mit Säure hydrolysierte, dabei aber versäuerte, die reduzierenden Eiweissabbau-Produkte vor Bestimmung des Reduktionsvermögens in passender Weise zu entfernen (l. c., S. 6). Kein Wunder also, dass es ihm Mühe machte, das Kupferoxydul zur Abscheidung zu bringen (l. c., S. 9). Da sich aber zeigte, dass die abgespaltene Substanz zu etwa 90% vergärbare war, würde dies dann doch dafür sprechen, dass der genannte Fehler nicht von so grosser Bedeutung war wie man beim ersten Anblick vermuten musste.

Die von Salkowski (477) aus enteweisstem Leberextrakt hergestellte Substanz, die nach saurer Hydrolyse reduzierte, ohne dass sich aber Kupferoxydul absetzte, war wahrscheinlich mit Kreatinin, Ammonsalzen oder dgl. verunreinigt; von diesen Substanzen wenigstens ist bekannt, dass sie die genannte Störung verursachen können.

Auch an anderen Organen hat man die Tatsache der Zunahme des reduzierenden Vermögens durch Hydrolyse mit Säure feststellen können. -So fand

z. B. Schützenberger (27) schon vor vielen Jahren in den Eutern von Rindern eine Substanz, die nach saurer Hydrolyse ein reduzierendes Produkt lieferte; er betrachtete dieses als die Grundsubstanz des Milchzuckers. Das ist gewiss eine sehr wichtige Annahme; bemerkenswerterweise scheint diese Frage niemals weiter experimentell untersucht zu sein.

Oswald (425) stellte aus Thyreoglobulin eine geringe Menge eines Osazons her, von dem aber kein Schmelzpunkt bestimmt werden konnte; auch war keine charakteristische Reaktion mit Phloroglucin-HCl (Pentosen) zu erhalten.

Damit sind die Untersuchungen erwähnt, bei denen man sich damit begnügt hat, bloss die Zunahme des reduzierenden Vermögens durch die Hydrolyse mit Säure als solche festzustellen; in den nächsten Kapiteln werden wir noch einer ganzen Menge Arbeiten begegnen, deren Ergebnisse gleichfalls positiv waren, der betreffende Forscher aber doch meinte, die von ihm gefundene Substanz lasse sich schon in einer bestimmten Rubrik, z. B. jener der Hexosephosphate, der Nucleoproteide oder dgl. unterbringen.

Jedenfalls bleibt es eine Tatsache, dass bei weitem die meisten, ja praktisch fast alle Forscher, die sich mit solchen Versuchen beschäftigt haben, die genannte, nicht auf Glykogen zurückzuführende Zunahme des reduzierenden Vermögens fanden. Nicht aber Burn und Marks (101) in einer neueren Untersuchung: auf Grund eines einzigen Versuches mit Leber eines normalen Hundes, „während langer Zeit“ hydrolysiert mit 5%iger Salzsäure und dann enteieisst mit Natriumwolframat (ein Verfahren, das, wie sie selbst zugeben, und wir völlig bestätigen können, für solche Versuche vollkommen ungeeignet ist, so dass sie sich wegen der stark auseinandergehenden Werte genötigt sahen eine beträchtliche Zahl von Bestimmungen auszuführen und davon den Mittelwert zu berechnen!), kommen sie zu folgendem Schluss: „We concluded that even in the case of a liver containing as much as 6% of carbohydrate, that portion not occurring as glycogen or glucose cannot be detected with certainty, and that in livers containing less than 1 per cent it may therefore be neglected.“ Man sieht: gerade die falsche Folgerung, wenn man an die experimentellen Befunde von Bissinger und von uns selbst (worauf wir später zurückkommen) denkt, bei denen sich eine gewisse Reziprozität zwischen Glykogengehalt einerseits und dem übrigen „gebundenen Zucker“ andererseits zeigte. Infolge dieses irrigen Schlusses haben die englischen Autoren ihre Versuche nicht so ausgenützt wie sonst möglich gewesen wäre.

Nur wollen wir darauf hinweisen, dass es ihnen gelang, Lebern nahezu glykogenfrei zu machen dadurch, dass sie den Versuchstieren fast ausschliesslich Fett als Nahrung reichten. Katzen erhielten dicken Rahm, Lebertran und Wasser, 4—7 Tage lang, ältere Hunde wurden mit Schafsfett und Wasser etwas länger vorbehandelt. Auch hier bietet sich die Möglichkeit, ebenso

wie bei der später noch zu besprechenden Phosphorvergiftung, die dann noch in der Leber vorhandenen Kohlenhydratreserven etwas eingehender studieren zu können. Denn solche, oder wenigstens Substanzen, die sich äusserst leicht in Kohlenhydraten verwandeln lassen, sind dann gewiss noch vorhanden. Burn und Marks konnten feststellen, dass die Lebern von derart vorbehandelten Tieren, obwohl glykogenfrei, bei Durchströmung ziemlich beträchtliche Mengen „Kohlenhydrat“ (6—16 pro mille reduzierende Substanz, auf das Lebergewicht als Glucose umgerechnet) abgaben. Doch war beim Anfang des Versuchs kein Glykogen zugegen (im Gegenteil: dies bildete sich während des Versuchs!); dies konnte deshalb auch nicht für die Zuckerabgabe verantwortlich gestellt werden. Ebenso wenig konnte es aus Eiweiss stammen, denn es wurden nur ganz wenig stickstoffhaltige Abbauprodukte frei. Wo die Wahl dermassen eingeschränkt wird, darf man auch hier vielleicht in der Richtung der Fettkohlenhydratverbindungen suchen, der Jecorine oder wie sie weiter heissen mögen.

Seegen (485, S. 117; 486, S. 475) hydrolysierte wässrige Leberextrakte mit Säure; auch dabei wurde immer mehr reduzierende Substanz in Freiheit gesetzt als mit dem in anderer Weise bestimmten Glykogengehalt übereinstimmte. Daneben zeigte sich, dass, obwohl die Zuckerabgabe seitens eines Organes immer unmittelbar nach dem Tode einsetzt, und dann oft sehr beträchtliche Mengen frei werden, das Glykogen häufig erst nach etwa einer Stunde abzusinken anfängt (485, S. 125). Auch das weist darauf hin, dass der Zucker aus einer anderen Grundsubstanz abgespalten sein muss.

Weiter fand Seegen (485, S. 176; 486, S. 476 usw.), dass, wenn er Leber wiederholt gründlich mit Wasser auskochte, der schliesslich übrigbleibende Rest bei Hydrolyse mit Säure nur noch eine Spur von reduzierender Substanz in Freiheit setzte. Also war offenbar nahezu alle Hy-S wasserlöslich. Und vollkommen berechtigt war seine Bemerkung, dass diese keineswegs einen zu vernachlässigenden Wert bedeutet; nach seinen Erfahrungen übertrifft sie, bei Hunden, sofort nach dem Tode bestimmt, den Wert des freien Leberzuckers beträchtlich, beträgt sogar bisweilen 3—5 mal soviel. Kalbslebern, einige Stunden nach dem Tode untersucht, zeigten ausserordentlich hohe Werte. Auch in Hinsicht auf die daneben vorhandenen Glykogenwerte sind die Werte immer bedeutend. Darauf kommen wir später bei der Besprechung unserer eigenen Versuche noch zurück.

Weiter konnte Seegen feststellen, dass die Leber-Hy-S teils von Alkohol niedergeschlagen wird, teils sich darin löst. Das stimmt also mit einem Teil von Pavys „Amylose-“ und „Isomaltose“fraktionen überein.

Die aus wässrigen Leberdekokten mittels Alkohol präzipitierte Masse reinigte Seegen noch einmal durch Lösen und erneutes Niederschlagen; sie war in Wasser vollkommen löslich, in Alkohol und Äther hingegen unlöslich (seines Erachtens im Gegensatz zum „Jecorin“). Die wässrige Lösung war

deutlich rechtsdrehend. Chemisch rein war die Substanz dennoch seiner Meinung nach längst nicht; sie hatte noch einen hohen Aschegehalt und enthielt sehr viel N (9,27—12,71% der aschenfreien Substanz). Sie reduzierte alkalische Kupferlösungen, zeigte hiermit anfangs oft deutliche Biuretfarbe; die Reduktion stimmte mit etwa  $\frac{1}{4}$  des Gewichtes an reiner Glucose überein. Sie vergor nicht und zeigte keine andere Zuckerreaktionen (dies alles bezieht sich also auf die nichthydrolysierte Substanz!).

Wurde sie nun aber mit Salzsäure 8 (!) Stunden lang im Autoklaven in einem zugeschmolzenen Glasrohr erhitzt, so bildete sich ein Zucker, der vollständig vergärbar war und mit Phenylhydrazin schöne Osazonkrystalle lieferte. Meistens wurde 70—80%, ein einziges Mal 90—95% der Substanz als Zucker wiedergefunden.

Zusammenfassend sagt Seegen (485, S. 180; 486, S. 477): Die mittels 90%igem Alkohol aus dem wässrigen Leberdekot niedergeschlagene Substanz ist dadurch charakterisiert, dass sie N-haltig ist, Kupferoxyd in alkalischer Lösung reduziert und beim Erhitzen mit Säure in Zucker umgesetzt wird. Eine weitere Reinigung gelang ihm damals noch nicht. Zu seiner Überraschung zeigte sich aber, dass diese Substanz nur 3—4 pro mille des feuchten Lebergewichts ausmachte, während die gesamte Menge Hy-S, mit Ausnahme des Glykogens, etwa 40 pro mille betrug. Welche Substanz für die übrigen 90% der Hy-S verantwortlich war, wusste er damals noch gar nicht. Später hat auch er sich gefragt, ob diese nicht in irgendeiner Weise mit dem Fett in Beziehung stehe (486, S. XX).

In einer späteren Untersuchung gelang es ihm, die N-haltige Substanz noch weiter zu reinigen und Eiweiss, Glykogen und Blutzucker vollständig daraus zu entfernen. Für die beiden erstgenannten zeigte sich Gerbsäure in grossem Überschuss als ein geeignetes Reagens: es schlägt Glykogen und Eiweiss sofort quantitativ nieder. Aus dem klaren Filtrat liess sich die Substanz, die also mit Gerbsäure nicht präcipitiert, mittels Alkohol leicht fällen (Alkohol zusetzen bis der Gehalt 90% beträgt; 12 Stunden stehen lassen). Die Entfernung der letzten Gerbsäurereste zeigte sich sehr schwierig, aber schliesslich gelang es doch mit in besonderer Weise hergestelltem Hautpulver, insbesondere, wenn zuvor der grösste Überschuss mit krystallisiertem Eieralbumin weggenommen war (486, S. XIX und 478). Die in dieser Weise rein erhaltene Substanz reagierte schwach sauer; über Schwefelsäure getrocknet bildete sie ein gelblich weisses Pulver, das sich in kaltem Wasser vollkommen löste, in 90%igem Alkohol oder Äther hingegen gar nicht. Sie enthielt 5—7% N, aber gab keine Biuretreaktion. Beim Erhitzen mit 2%iger Salzsäure im zugeschmolzenen Glasrohr wurde 50—70% als stark reduzierende Substanz, die nach allen Eigenschaften Glucose war, wiedergefunden. Mit essigsauerm Phenylhydrazin lieferte diese ein Osazon, dessen Schmelzpunkt (202°) und Krystallform mit denen des Glucosazons identisch waren. Beim Vergären

ging sie vollständig in  $\text{CO}_2$  und Alkohol über, zum Unterschied von Chitosamin usw.

Die ungespaltene Substanz wurde von Eiweissfällungsmitteln wie Millons und Brueckes Reagens nicht gefällt. Mit Metallsalzen (Bleiacetat, Silbernitrat, Zinkacetat, Bariumhydroxyd) bildete sie schlecht lösliche, schöne Verbindungen. Mit  $\alpha$ -Naphthol zeigte sie eine stark positive Molisch-Reaktion. Auch die Tollenssche Reaktion mit Orcin-HCl war stark positiv und wies spektroskopisch den charakteristischen Streifen auf.

Nach der Hydrolyse wurde der Stickstoff im zugeschmolzenen Rohr als Ammoniak zurückgefunden, der beim gelinden Erwärmen mit starker Kalilauge entwich. Die Tollens-Reaktion war auch dann noch immer deutlich; nach der Vergärung war sie verschwunden. Schon viel früher hatte auch Pavy (433, S. 126, 132 usw.) in wässrigen Leberextrakten neben Glykogen niedere Kohlenhydrate gefunden, die durch Alkohol fällbar waren und ein reduzierendes Vermögen aufwiesen, das ohne vorherige Hydrolyse etwas niedriger war als das der Glucose, ja bisweilen viel niedriger als das der Maltose; im letztgenannten Falle meint er, dass es sich um eine dextrinartige Substanz handle oder um einen Stoff, der neben Kohlenhydraten noch andere Komponenten enthält. (Auch Pavy stellte fest, dass einige Zeit nach dem Tode der freie Zuckergehalt der Leber stark steigt; bereitet man dann einen alkoholischen Extrakt und hydrolysiert diesen mit Säure, so bleibt das Reduktionsvermögen unverändert, zum Zeichen, dass dann tatsächlich nur Glucose und nichts anderes zugegen ist.) Aus dem aus sofort gefrorener Leber extrahierten Zucker mit sehr niedrigem Reduktionsvermögen wurde ein Osazon hergestellt (433, S. 139). Bei Kaltblütern kommt dieselbe oder eine ähnliche Substanz vor; auch diese hat vor Hydrolyse ein sehr geringes reduzierendes Vermögen. Sie ist aber stabiler als bei Warmblütern, so dass die Bearbeitung weniger übereilt geschehen kann.

Bissinger und Lesser (75) haben ganze Mäuse gefroren, zerkleinert und dann das Gewebe zuerst mit Alkohol, danach viermal hintereinander mit kochendem Wasser extrahiert (daneben wurden freier Gewebszucker und Glykogen bestimmt). Der Alkohol wurde abgedunstet; sodann wurden alle Extrakte vereinigt und während 3 Stunden auf dem Wasserbade mit 3%iger  $\text{H}_2\text{SO}_4$  hydrolysiert. Dann wurde mittels Baryt neutralisiert und mit Mercuriacetat enteiwisst. Nichtsdestoweniger gab das Filtrat immer noch eine positive Biuretreaktion. In späteren Versuchen wurden die Tiere einfach in toto hydrolysiert.

Wurde nur der alkoholische Extrakt hydrolysiert, so zeigte auch dieser eine Zunahme des reduzierenden Vermögens von etwa 10% (vgl. Pavy!).

Im besonderen machen wir auf diejenigen Versuche von Bissinger und Lesser (l. c.) aufmerksam, die zeigten, dass bei normalen hungernden Mäusen der Glykogenehalt um mehr als 100% variieren kann, während der

Gesamtkohlenhydratgehalt (das Glykogen mit einbegriffen) in ihren Analysen nur Differenzen bis zu 7% zeigte. Das veranlasste sie zur Bemerkung, dass es den Schein hätte, als ob die Menge des Nichtglykogenkohlenhydrates von der Menge des Glykogens abhängig sei, und zwar in entgegengesetztem Sinne variierte. Damit vergleiche man unsere eigenen später zu erwähnenden Ergebnisse, die dasselbe zu zeigen scheinen.

Auch bei den Gewebshydrolysaten muss man mit einer gewissen Restreduktion rechnen; nach Bissinger und Lesser ist (3—)14(—28)% der reduzierenden Substanz nicht mit Kupfer-Kalk fällbar und deshalb kein Kohlenhydrat. Sie meinen, dass betreffs einer eventuellen Hexosephosphatbildung ihre Versuche wenig beweisen, da der davon abgespaltene Zucker (Fructose) bei der Hydrolyse zerstört sein könnte.

Alkoholische Leberextrakte sind weiter von Eadie, Macleod und Noble (162; 366 S. 318) hydrolysiert worden. Ihre Ergebnisse waren folgende: Nach der Hydrolyse mit 2%iger Salzsäure zeigten meistens die mit heissem Alkohol hergestellten Auszüge eine grössere Zunahme ihres reduzierenden Vermögens als kalt hergestellte. Bei beiden Arten von Präparaten aber war das Ergebnis äusserst wechselnd und trat bisweilen sogar Abnahme statt Zunahme ein. Diese Abnahme war am deutlichsten in den kalt hergestellten Extrakten. Man darf also vielleicht mit Vorsicht den Schluss ziehen, dass in kaltem Alkohol ein besonders labiler Teil der Hy-S gut löslich ist.

Alkoholische Muskelextrakte sollen nach Forschbach c. s. (207) durch Hydrolyse mit HCl niemals eine Zunahme ihres reduzierenden Vermögens zeigen. Im Lichte der neueren Untersuchungen wird man vermuten müssen, dass sie die vom Lactacidogen herstammende Fructose zerstört haben.

Zum Schluss erwähnen wir eine Untersuchung von Winter (536), wobei entfettete Lebern und Muskeln ausgepresst wurden, und dann der Presssaft hydrolysiert wurde; dabei wurden gleichzeitig das reduzierende Vermögen und der Kreatiningehalt verfolgt. Es stellte sich nun heraus, dass die Reduktion viel stärker anstieg als der Kreatininzunahme entsprach, mit anderen Worten ist die Zunahme des reduzierenden Vermögens nicht ein vom ursprünglich anwesenden Kreatiningehalt hervorgerufener Scheineffekt, sondern es werden dabei tatsächlich auch andere reduzierende Substanzen frei. Winter vermutet, dass es sich hier hauptsächlich um Maltose handle, die gespalten werde.

## VI. „Freier“ und „gebundener Zucker“ des nichtdiabetischen Harns.

Einen Fingerzeig betreffs der chemischen Natur der im Blute vorkommenden komplexen Kohlenhydraten können uns auch vielleicht diejenigen geben, die mit dem normalen Harn ausgeschieden werden. Allgemein

betrachtet man diese Substanzen als körperfremde, unverwertbare Zucker und Zuckerderivate, die wahrscheinlich erst oberhalb eines gewissen Schwellenwerts von der Niere ausgeschieden werden, d. h. darunter auch im Blute kreisen [Folin (200)]. Es sollen allerhand Di- und Polysaccharide sein [Folin und Berglund (202)]. Ob aber die Mengen so beträchtliche sind, wie Glassmann (231) angibt, erscheint mindestens fraglich, wenigstens für normale Fälle. Doch ist man auf diesem Gebiete in den letzten Dezennien kaum weiter gekommen. Denn schon 1895 hat Lemaire (322a) die Kohlenhydrate des Harns sowohl von normalen Individuen als von Puerperae eingehend analysiert. Es gelang ihm, mit Hilfe von Benzoylchlorid (wie dies vor ihm schon eine ganze Reihe von Autoren getan hatten) die Zucker herauszufangen. Verseifte er dann die entstandenen Ester, so wurden die Kohlenhydrate in reiner Lösung erhalten.

Daraus konnte er nun isolieren:

1. Eine reduzierende Substanz, die Phenylglucosazon lieferte, mit dem charakteristischen Schmelzpunkt (203—204°), seines Erachtens also wohl Glucose war.

2. Eine nicht reduzierende wasserlösliche, mit Alkohol fällbare Substanz, die ganz stickstofffrei war, etwas Asche enthielt, mit alkalischer Kupferlösung einen flockigen Niederschlag gab, dessen Farbe sich beim Kochen nicht änderte und nach ziemlich langfristigen Kochen mit Schwefelsäure reduzierende Eigenschaften bekam, sich aber mit Jod nicht färbte. Nach dem Autor sei dies Dextrin.

3. Eine reduzierende unvergärbare Substanz, die ein erst in der Kälte auskrystallisierendes Osazon (feine gelbe Rosetten von Krystallnadelchen, Sm 150—151°) lieferte. Da der Schmelzpunkt sowohl dem des Isomaltosazons als dem der Pentosazone nahe kam, wurden Stickstoffbestimmungen vorgenommen: der N-gehalt des in Rede stehenden Osazons betrug 10,40 bis 10,50%, während dies beim Isomaltosazon ( $C_{24}H_{32}N_4O_9$ ) 10,77%, bei Pentosazonen ( $C_{17}H_{20}N_4O_3$ ) 17,07% sei. Offenbar lag hier also ein etwas verunreinigtes Isomaltosazon vor, und so wäre die dritte reduzierende Substanz des Harns Isomaltose.

In pathologischen Fällen hat Cammidge sich schon seit vielen Jahren mit diesem Gegenstand beschäftigt: die bekannte, seinen Namen tragende Reaktion beruht auf der Herstellung der Osazone dieser Substanzen aus dem Harn. Über den klinischen Wert dieser Methode möge sehr verschieden geurteilt werden; die Tatsache bleibt, dass sie uns erlaubt, eine wenigstens etwas genauere Einsicht in die Natur der mit dem Harn ausgeschiedenen Substanzen zu erhalten.

Nach Neuberg und Saneyoshi (405, 415) bestehen die Krystalle oft aus dem Osazon der Glykuronsäure, oft auch aus Pentosazon, bisweilen ausschliesslich aus Hexosazon, einzelne Male auch aus selteneren Produkten:

unbekannten Hexosen, Glyoxylsäure. Pekelharing und van Hoogenhuyze (439) gelang es nicht, das Produkt mit irgendeinem der bekannten Zucker-osazone zu identifizieren; wohl konnten sie die Grundsubstanz selbst isolieren: diese reduzierte nicht vor, wohl aber nach dem Kochen mit Mineralsäure.

Früher hatte schon Pavy (433, S. 172 usw.) freien und gebundenen Zucker im Harn von normalen und diabetischen Menschen und Tieren, mit und ohne orale Verabreichung von verschiedenen Zuckerarten, untersucht. Die Reduktionswerte, an denen aber (die ungenügende Enteiweissung mittels Alkohol in Betracht gezogen) gewiss ausser Zucker noch zahlreiche andere Substanzen beteiligt waren, stiegen tatsächlich durch die saure Hydrolyse beträchtlich an (434, S. 16 usw.). Pavy glaubte zu beobachten, dass im Mittel die Werte bei Herbivoren etwas höher waren als bei Carnivoren; die Unterschiede waren aber nicht gross, und es zeigten sich starke individuelle Differenzen. Seiner Meinung nach beruhe die Zunahme des reduzierenden Vermögens entweder auf der Anwesenheit eines komplexen Kohlenhydrates mit geringerem reduzierenden Vermögen als dem der Glucose, oder es sei ein Glucosid zugegen; in beiden Fällen fände dann eine Spaltung durch die Säure statt. Das Ergebnis der Einwirkung des Phenylhydrazins soll darauf hindeuten, dass ein Zucker vom Maltosetyp vorhanden sein soll; will man aber die oft exzessive Zunahme des reduzierenden Vermögens aus der Spaltung eines polymeren Kohlenhydrates erklären, so müsse dies ein sehr viel geringeres Reduktionsvermögen besitzen als Maltose. Glykogen oder „Tierischer Gummi“ könne es nicht sein, weil diese nicht in Alkohol löslich sind, während der betreffende Stoff wohl alkohollöslich ist, wie sich bei alkoholischer Extraktion des Rückstandes von eingengtem Harn zeigte (434, S. 19).

Einige Jahre später hat sich Pavy, zusammen mit Siau (437), nochmals mit den Kohlenhydraten des Harns beschäftigt, und die bis 1901 erschienene Literatur ausführlich zitiert. Wie bei ihren Untersuchungen an Blut und Organen fanden sie jetzt auch im Harn immer neben Glucose Isomaltose, beide durch ihr Osazon (vom letzteren Sm. 153<sup>o</sup>) gekennzeichnet. Das Isomaltosazon wurde in besonders grossen Mengen erhalten, wenn Patienten mit gutartiger Glykosurie viel Kohlenhydrat per os gereicht wurde: dies waren dieselben Harne, die bei Hydrolyse mit Säure eine deutliche Zunahme ihres reduzierenden Vermögens aufwiesen. Das gereinigte Osazon schmolz bei 152—154<sup>o</sup>; beim Trocknen auf Porzellan zerfloss es zu einer rotbraunen Masse. Pentosen waren abwesend; die Phloroglucin-HCl-Reaktion war negativ.

Vor kurzem hat Cammidge (111) nochmals eine Zusammenfassung der bisherigen Befunde veröffentlicht. Er ist der Ansicht, dass es sich hier meistens um Dextrinurie handle. Die eine Tierart vertrage mehr Dextrin (per os oder parenteral) als die andere; der Überschuss werde mit dem Harn ausgeschieden. Was in die Portalvene gelangt, werde nahezu vollständig von der Leber festgehalten; nur wenn man dieses Organ mit bestimmten

Giften, wie z. B. Hydrazinphosphat, lähme, erscheine hydrolysierbares Kohlenhydrat in mehr als normalen Mengen im peripheren Blute und nachher im Harn. Anfänglich, nach kleinen Gaben des Giftes, sei die Dextrinausscheidung rein alimentär und trete nur nach Kohlenhydratverabreichung auf (exogene Dextrinurie); erhöht man dann aber nachher, beim jetzt hungernden Tiere, die Dosis, so erscheint aufs neue (diesmal endogenes) Dextrin im Harn. Eine viel häufigere Ursache für endogene Dextrinurie sei aber Störung der Pankreasfunktion. (Hierbei komme sie hauptsächlich in den späteren Krankheitsstadien vor, im Gegensatz zum Verhalten bei der Hydrazinvergiftung.) Löst man eine subakute Pankreatitis aus durch Einspritzung einer kleinen Menge Terpentin in den Ductus Wirsungianus, so beobachtet man innerhalb 24 Stunden das Auftreten grosser Mengen eines nichtreduzierenden hydrolysierbaren Kohlenhydrats im Harn; spritzt man in ähnlicher Weise Terpentin in den Ductus choledochus ein, so geschieht von alledem nichts.

Erzeugt man eine chronische Pankreatitis dadurch, dass man einen Seidenfaden aus dem Duodenum durch den Ductus Wirsungianus in das Pankreas hineinführt, so nimmt gleichfalls die mit dem Harn ausgeschiedene Menge hydrolysierbaren Kohlenhydrats zu. Exstirpiert man die Bauchspeicheldrüse, so verschwindet das hydrolysierbare Kohlenhydrat, und es tritt Glucose an seine Stelle. Dies ist in einer ganzen Reihe von Versuchen mit immer gleichem Ergebnis festgestellt worden. Exstirpiert man ein normales Pankreas teilweise und verringert so die Menge des zur Verfügung stehenden Pankreashormons, so nimmt immer die Menge Hy-S im Nüchternblut zu, und es tritt Dextrinurie ein. Nimmt man bei folgenden Operationen immer mehr von der Drüse weg, um so weniger beherrscht das Pankreas den Kohlenhydratstoffwechsel, und es tritt im Blute sowohl wie im Harn an Stelle des Dextrins allmählich Glucose in steigender Menge auf (alles endogenen Ursprungs, weil am 8—10 Stunden hungernden Tiere festgestellt).

Schliesslich nennt Cammidge noch als Ursachen für Dextrinurie: übermässige Tätigkeit von Hypophyse und Nebennieren: so habe er sie in mehreren Fällen von Akromegalie beobachtet.

Nicht alle nichtreduzierenden, hydrolysierbaren Substanzen im Harn seien aber Dextrine, und darauf muss man bei der klinischen Bewertung des Befundes gefasst sein. Dazu ist ausserdem nötig, dass die „Cammidge-Reaktion“ mit richtiger Technik ausgeführt wird; der Autor gibt selbst die Vorschrift nochmals in ihrer neuesten Form (111); darauf möge hier verwiesen werden. Und schliesslich gibt es Fälle, in denen die Reaktion, wie Cammidge selber angibt, von vorneherein unbrauchbar ist.

Alimentäre Dextrinurie weise auf eine anabole Störung (unzureichende Leberfunktion) hin; endogene Dextrinurie sei demgegenüber ein Zeichen einer katabolen Störung (meistens absolute oder relative Insuffizienz der inneren

Sekretion des Pankreas, bisweilen auch weit vorgeschrittene Zerstörung der Leber). Cammidge hat feststellen können, dass konstant eine Dextrinurie einer später auftretenden diabetischen Glykosurie Monate und Jahre vorangeht; seines Erachtens sollte darauf immer geachtet werden, weil dies die Stoffwechselanomalie eher, und mit besseren Erfolgchancen, anzugreifen gestattet.

Was die chemischen Eigenschaften des Harn„dextrins“ betrifft, so finden sich bei Cammidge (l. c.) folgende Angaben: Nach einer schon vor vielen Jahren von Baisch (11) angegebenen Technik konnte er die in Rede stehenden Substanzen über ihre unlöslichen Benzoylverbindungen isolieren. So hergestellt, seien sie ein amorphes, geschmack- und geruchloses Pulver, das sich in Wasser gut zu einer klaren, optisch schwach rechtsdrehenden Flüssigkeit löst, welche mit Hefe nicht vergärt und sich mit Jod nicht bräunt. Die Substanz reduziere alkalische Kupfer- oder Wismutlösungen nicht; nach kurzdauernder Hydrolyse mit verdünnter Salz- oder Schwefelsäure entstehe eine reduzierende, nicht vergärbare Substanz, die die Orcin- und Phloroglucinreaktionen einer Pentose (Xylose) gebe; nach vollständigerer Hydrolyse sollen vergärbare reduzierende Zucker entstehen.

Nach Cammidge ist — im Gegensatz zu Pavys Angaben — das Harndextrin unlöslich in Alkohol und Äther; es werde aus der wässrigen Lösung gefällt durch lösliche Quecksilber- und Bleisalze; in stark alkalischer Lösung sollen auch Kupfersalze eine Fällung bewirken. Beim Kochen mit konzentrierter Salzsäure entstehe Furfuraldehyd, und trete auf Zusatz von  $\alpha$ -Naphthol eine Furfurolreaktion auf. Beim Erhitzen mit Salpetersäure entstehe Oxalsäure. In gereinigtem Zustande sei die Substanz stickstofffrei, und zeige als chemische Zusammensetzung C 43,8% H 6,2% O 50,00%, was der wahrscheinlichen Formel  $(C_6H_{10}O_5)_n \cdot C_5H_9O_5$  entsprechen soll.

Die letzte experimentelle Überprüfung des Gegenstandes, besonders beim normalen Harn, ist vor kurzem von Patterson (431) unternommen worden. Dieser Forscher fand, dass unter Umständen, wo Glucose glatt vergärt, der freie Zucker des normalen Harnes vollkommen unvergärbar ist. Er glaubt auch, das Osazon des wichtigsten Harnzuckers isoliert zu haben; es zeigte, sowohl betreffs Krystallform, Schmelzpunkt (170—182° unter Zersetzung) als Löslichkeit und Beständigkeit gegen Säuren deutliche Unterschiede gegen Glucosazon. Eine Abbildung der Krystalle liegt seiner Arbeit bei.

Die Hydrolyse des komplexen Kohlenhydrates, das man oft auch nach ihm in normalem Harn antrifft, lieferte ihm einen reduzierenden Zucker, der wohl vergärbar war. Bisweilen auch sah er nach der Hydrolyse (2 Volumteile starke HCl auf 100 Teile Harn) statt einer Zunahme gerade eine Abnahme des reduzierenden Vermögens; als Erklärung nimmt er an, dass in solchen Fällen einerseits die schon vorhandene reduzierende Substanz von der Säure zerstört wird, andererseits hydrolysierbare Polymere fehlen.

## VII. Identifizierung der durch Hydrolyse mit Säure abspaltbaren reduzierenden Substanzen.

Im Vorangehenden haben wir schon gelegentlich, bei jeder der betreffenden Untersuchungen erwähnt, inwieweit das erhaltene Produkt vom Autor identifiziert worden war. Dabei zeigte sich, dass es kaum zwei Autoren gibt, deren Angaben übereinstimmen. Deshalb müssen wir uns mit dieser Frage hier etwas eingehender beschäftigen. Als erstes Hilfsmittel nennen wir

### A. Phenylhydrazin und seine Derivate.

**Phenylhydrazin.** Am meisten hat man wohl zu diesem Zweck die Osazonmethode herangezogen; welche Fehler dieser anhaften, haben wir schon a. a. O. (S. 23) auseinandergesetzt.

Zur Erleichterung der Übersicht haben wir alle Werte, die wir zu Gesicht bekommen haben, in untenstehender Tabelle vereinigt; zum besseren Vergleich haben wir auch die Zahlen für eine Anzahl chemisch wohlbekannter Verbindungen — spatiert gedruckt — aufgenommen, da auch hierfür die Angaben weit und breit zerstreut sind. Die verschiedenen Produkte sind in der Tabelle nach aufsteigendem Schmelzpunkt geordnet, weil dieser eine der am leichtesten zu bestimmenden charakteristischen Eigenschaften bildet. Da aber, wie schon a. a. O. (S. 23) erwähnt, kleine Änderungen der Bestimmungstechnik erhebliche Schwankungen der gefundenen Zahl verursachen können, schien es uns wünschenswert, die in der Literatur für eine und dieselbe Substanz, z. B. Phenylglucosazon, angegebenen verschiedenen Werte sämtlich zu erwähnen, denn dieselben technischen Ursachen, die bei den chemisch reinen Substanzen für die Schwankungen verantwortlich waren, können auch bei den zu identifizierenden Derivaten von Körperbestandteilen unbemerkt zur Wirkung gelangt sein. Die Tabelle beansprucht also nicht mehr, als das Suchen, welches chemische Individuum eine Substanz, deren Schmelzpunkt man bestimmt hat, etwaigenfalls sein kann, zu erleichtern. Niemals aber darf die Schmelzpunktsbestimmung allein zur Identifikation genügen; schon weiter würde daneben eine Elementaranalyse führen, abgesehen noch von der Feststellung anderer Charakteristika. Bisher aber hat man bei den aus Körperflüssigkeiten oder Organen hergestellten Verbindungen meistens die chemische Analyse der erhaltenen Krystalle unterlassen, so dass es in diesen Fällen besser erscheint, statt „Osazone“ einfach „Phenylhydrazinverbindungen“ zu sagen, damit nichts präjudiziert werde, das nicht exakt bewiesen ist.

Werden richtige Osazone gebildet, so ist dies zugleich ein Beweis, dass man damit die reduzierenden Substanzen festgelegt hat, denn sowohl das Vermögen zur Bildung eines Osazons als das Reduktionsvermögen beruhen auf der Anwesenheit freier Carbonylgruppen.

## Schmelzpunkte der Phenylhydrazinverbindungen.

Hergestellt aus	Zitat	Schmelzpunkt	Besonderheiten
Aceton . . . . .	118	42° C	Phenylhydrazon.
Phenylacetaldehyd . . .	118	58	
Furfurol . . . . .	118	97	
Acetophenon . . . . .	118	105	
Lävulinsäure . . . . .	118	108	
Glykuronsäure . . . . .	343 S. 111	+115	
Acetylaceton . . . . .	118	120	
Bernsteinsäuredialdehyd	118	125	
Acetylphenylhydrazin .	513, 118	127,5—128	
Dioxyaceton . . . . .	188, 118	132	Osazon, identisch mit dem des Glycerinaldehyds.
Glycerinaldehyd . . . .	188, 118	132	Glycerinaldehyd reduziert Fehlingsche Lösung sofort in der Kälte.
Glykuronsäure . . . . .	323	132—135 Maq.	
Muskelextrakt . . . . .	429	135	Setzte sich beim Erkalten teils amorph, teils kristallinisch ab.
Hexosemonophosphat .	91	135—136	Aus Muskel hergestellt.
Hexosemonophosphat .	462a	135—139	Bei Einwirkung von Hefesaft auf Glucose bzw. Fructose entstanden.
Glyoxylsäure . . . . .	405	135—141	Phenylhydrazon (N=17,21%)
Harn (Kalb), hydrolysiert .	405	135—141	Identisch mit Obenstehendem.
$\beta$ -Glucose . . . . .	545	140—141	Phenylhydrazon.
$\alpha$ -Ketobuttersäure . . .	118	144	
d-Glucose . . . . .	545	144—146	Phenylhydrazon.
Methylglyoxal . . . . .	188	145—147	
Hexosediphosphat . . .	173	148	Aus nicht ganz frischen Muskeln.
Isomaltose (= Glucose- $\beta$ -glucosid) . . . . .	439	150—151	Methodik s. Lemaire: Z. f. physiol. Chem. 21, 442. (N = 10,77%).
Hexosediphosphat . . .	462a	151	
l-Arabinose . . . . .	545	151—153	Phenylhydrazon.
Muskel (Säuger, Fische) . .	437	152—153	Hergestellt von Panormoff.
Leber (Hund) . . . . .	437	152—153	Hergestellt von Röhmann und Spitzer.
Harn . . . . .	437	152—154	Phloroglucin-HCl-Reaktion negativ.
Muskel, hydrol. . . . .	423	152—154	Aus heissem Wasser umkristallisiert.
Reines Maltosazon, mit Muskelhydrolysat gemischt . .	423	152—154	Nicht in seinen Komponenten zerlegbar.
Harn . . . . .	437	153	Hergestellt von Baisch, Lemaire, Rosin, Alfthan.
Thyreoid, hydrol. . . . .	79	153	Angeblich als Pentosazon erkannt.

Hergestellt aus	Zitat	Schmelzpunkt	Besonderheiten
Glykogen, hydrolysiert mittels Speichel oder Taka-Diastase (A), Pankreassaft oder Malzdiastase (B) . . .	423	±153	(A) soll bis zur Glucose, (B) nur bis zur Maltose abgebaut werden. Alle ergeben dasselbe Osazon (spherische Nadelaggregate), dass ein Gemisch von Maltosazon und einem amorphen Osazon einer dextrinartigen Substanz sein soll.
Muskel (Wels) . . . . .	429	153—155	
Thymus, hydrol. . . . .	79	155—158	Angeblich als Pentosazon erkannt.
Muskel, hydrol. . . . .	423	156	Aus 85 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> igem Alkohol umkrystallisiert.
Blut . . . . .	437	157—158	Löslich in heissem Wasser.
Pankreas, hydrol. . . . .	79	157—159	Angeblich als Pentosazon erkannt.
Thymusnucleoproteid, hydrol. . . . .	79	158	Tollens-Reaktion positiv.
Akrose . . . . .	194 a, 541 a	158—160	Osazon. C 60,34 H 6,15 N 15,64 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> . Glatt löslich in Essigester, aus 50 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> igem Alkohol umkrystallisierbar. Akrose entsteht bei Einwirkung von schwachen Alkalien auf Glycerinaldehyd und Dioxyceton: Formel C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> .
Milznucleoproteid, hydrol. .	542	158—160	Hergestellt von Blumenthal.
Hirnnucleoproteid, hydrol. .	542	158—160	Idem.
Thyreoidnucleoproteid, hydrol. . . . .	542	158—160	Idem.
Pankreasnucleoproteid, hydrol. . . . .	248, 542	158—160	Hergestellt von Hammarsten.
Leber, hydrol. . . . .	542	158—160	Identifiziert als d-Xylosazon. Hergestellt von Wohlgemuth.
d-Galaktose . . . . .	545	158—162	Phenylhydrazon.
l-Xylose . . . . .	545	158—170	Osazon. N = 17,07 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> .
d-Glucose . . . . .	118	159	Phenylhydrazon.
Rhamnose . . . . .	545	159	Phenylhydrazon.
α-Glucose . . . . .	545	159—160	Phenylhydrazon.
Pankreas, hydrol. . . . .	542	159—160	Hergestellt von Salkowski.
Glykuronsäure . . . . .	388	159—164	Soll entstehen, wenn pro Mol. Glykuronsäure 2 oder mehr Mol. Phenylhydrazin zugesetzt werden. Krystallform sehr variabel; den Pentosazonen sehr ähnlich, aber nicht identisch damit. Chemische Zusammensetzung C 63,05 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> , H 6,03 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> , N 11,5 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> .

Hergestellt aus	Zitat	Schmelzpunkt	Besonderheiten
l-Arabinose . . . . .	545	160	Osazon. N = 17,07%.
Gentiobiöse. . . . .	545	160—170	Osazon.
Muskel, hydrol. . . . .	423	162	Aus 94%igem Alkohol umkrystallisiert.
Mesoxalsäure . . . . .	118	165—167	
Zimtaldehyd . . . . .	118	168	
Glykolaldehyd. . . . .	118	170	C 70,59 H 5,88 N 23,53%
Glyoxal . . . . .	118	170	
Blutglobulin, hydrol. . . . .	400	170—172	Löslich in warmem Wasser.
Harn, normaler Zucker . . . . .	431	170—182	
Gulose . . . . .	343, S. 22	173	Rechtsdrehend.
d-Dextroxylohexosamin	343, S. 22	173	Osazon, identisch mit Obenstehendem.
Harn (Cambridgezucker) . . . . .	439	173—177 (unkorr.)	Osazon. N = ± 11,66%.
Leber, hydrol. . . . .	79	175—180	
Muskel, hydrol. . . . .	79	175—193	
Rhodeose . . . . .	545	176,5	Osazon.
Harn, hydrol. . . . .	439	177	
Milz, hydrol. . . . .	79	177—182	
Melibiose . . . . .	545	178—179	Löslich in 110 Teilen warmen Wassers; setzt sich beim Abkühlen teilweise als Anhydrid ab, das in Wasser unlöslich ist.
Harn (Cambridgezucker) . . . . .	Cambridge, zit. nach 29a	178—180	Osazon. N = ± 16,88%.
Ascitesflüssigkeit, hydrol. . . . .	79	180—181	
Rhamnose . . . . .	545	180—185	Osazon.
Blut (Rind, Stier, Pferd) <sup>1</sup> . . . . .	29a	181—182	N = ± 10,28% (?).
Fibrin, hydrol. . . . .	297	182—184	
Blutalbumin, hydrol. . . . .	297	183—185	
Oxalsäure . . . . .	118	184	
Maltose . . . . .	429	184	Soll bei langsamem Erwärmen so niedrig schmelzen.
Serumglobulin (Pferd) hydrol. . . . .	304	184—186	Erkannt als das schlecht krystallisierende Osazon einer linksdrehenden Aldose, die nicht vergor und mit Methylphenylhydrazin nicht reagierte. Dasselbst Isolierungstechnik.
Galaktose . . . . .	194	± 186	(Korr. 188). Dasselbst Technik der Herstellung korrekter Reagenzien.
d-Galaktose . . . . .	545	186—188	Osazon.

<sup>1</sup> Möglichkeit schwacher Hydrolyse.

Hergestellt aus	Zitat	Schmelzpunkt	Besonderheiten
Serumglobulin, hydrol. . . . .	1	186—188	(Korr. 189,5—191,5). Löslich in heissem Wasser. Nach einmaligem Umkrystallisieren F 199° (korr. 203°). Chem. Analyse: C 60,82%, H 6,19%.
Blut (Rind, Stier, Pferd) <sup>1</sup> . . .	29 a	186—191	Sog. X-Osazon. Gemisch. Enthält Lactosazon.
d-Mannose . . . . .	545	186—200	Osazon.
Helicin . . . . .	545	187	Phenylhydrazon.
Galaktose . . . . .	462	188—191	Löslich in viel heissem Wasser.
Eiereiweiss . . . . .	433 S. 50	189—190	
Leberextrakt, hydrol. . . . .	490	+190	
Glykuronsäure . . . . .	401	190—192	Gepaarte Glykuronsäuren liefern kein Osazon.
Melibiose . . . . .	545	190—192 Maq.	
Galaktose . . . . .	433, S. 50	190—193	
Brenztraubensäure . . . . .	118	192	
Blut . . . . .	437	193	Unlöslich in heissem Wasser. Krystallform des Glucosazons.
Muskelextrakt (Hund, Fisch). . . . .	429	193—196	Chemische Zusammensetzung: C 59,35—59,42%, H 6,54bis 6,56%, N 15,79%. Nach Hydrolyse des Osazons mit Säure und erneuter Darstellung eines Osazons gleich dies mehr dem Phenylglucosazon.
Glucose . . . . .	429	193—196	Beim langsamen Erhitzen.
Harn (Mensch) hydrol. . . . .	405	195—197	Ausnahmefall.
Serumglobulin (Rind) hydrol. . . . .	126	195—199	
Glucothionsäure (Chondroitin) aus Mamma, hydrol. . . . .	375	196	Enthielt Spuren Furfurol.
Glucose . . . . .	29 a	196—198 (korr.)	Osazon, bei langsamem Erhitzen (1° pro 7—8 Sek.)
Maltose . . . . .	240, 323	196—198	Löslich in heissem Wasser, unlöslich in Benzol und Äther.
Blutalbumin . . . . .	306	196—200	Teilweise identifiziert als Chitosamin.
Blut <sup>1</sup> . . . . .	29 a	199—200 (korr.)	Bei schnellem Erhitzen.
Lactose . . . . .	29 a	199—200 (korr.)	Bei schnellem Erhitzen.
Serumglobulin, hydrol. . . . .	1	199—201	(Korr. 203—204). Unlöslich in heissem Wasser. Schmelzpunkt nach Vermischen mit chemisch reinem Phenylglucosazon unverändert. Chemische Zusammensetzung: C 60,77%, H 6,22%.

<sup>1</sup> Möglichkeit schwacher Hydrolyse.

Hergestellt aus	Zitat	Schmelzpunkt	Besonderheiten
Glykuronsäure . . . . .	388	199—205	Soll entstehen, wenn man pro Mol. Glykuronsäure 1 Mol. Phenylhydrazin zusetzt. Dem Glucosazon ähnlich, aber nicht identisch damit. Nach wiederholtem Umkristallisieren war der Schmelzpunkt auf 210—217° gestiegen. Chem. Zusammensetzung: C 59,93%, H 6,63%, N 15,52%.
d-Gluconsäure . . . . .	118	200	Phenylhydrazid.
Chitosamin . . . . .	343, S. 12	200	(Sog. Glucosamin). Osazon linksdrehend, identisch mit Glucosazon (226a, S. 253).
Rinderserum, hydrol. . . .	171	200	
Glucose + Muskelplasma + Pankreasextrakt . . . .	345	200 (unkorr.)	Krystallisiert erst in der Kälte aus. Soll von einer unbekanntem Biose abstammen. Chemische Zusammensetzung N 12,12%.
Lactose . . . . .	194, 462	200—212	(Korr. 203—215°). Osazon, löslich in heissem Wasser. N = 10,77%.
Chondrosamin . . . . .	343, S. 19	201	Rechtsdrehend.
Leber, hydrol. . . . .	486, S. 483	202	Vergärbarer Zucker.
Maltose (= Glucose- $\alpha$ -Glucosid). . . . .	545	202—208	Osazon.
Maltose . . . . .	118	203	Leichter in Aceton löslich als Glucosazon. N = 10,77%.
Blut . . . . .	437	203	Form des Glucosazons.
Leberjecorin, hydrol. . . . .	372	203—204	Setzte sich schon in der Wärme ab.
Jecorin aus verfetteten Organen von Mensch und Hund (Leber, Milz, Herz) hydrol. . . . .	531	203—204	
Rinderserummukoid, hydrol. . . . .	171	204	
d-Glucose . . . . .	118	204	Osazon. Weniger in Aceton löslich als Maltosazon.
Blut, Huhn . . . . .	476	204	
Blut, Mensch . . . . .	395, 443	204—205	
Blut, Rind . . . . .	395	204—205	Übereinstimmende Ergebnisse von Külz und Miura.
Alkoholischer Muskel-extrakt . . . . .	207	204—205	Typische Glucosazonform.
Glykuronsäure . . . . .	405	204—205	Nicht identisch mit Glucosazon.
Leber, hydrol. . . . .	464	205	

Hergestellt aus	Zitat	Schmelzpunkt	Besonderheiten
Glucothionsäure (Chondroitin) aus Milz, hydr. .	375	205	Orcinreaktion atypisch. Bei Destillation mit HCl nur wenig Furfurol.
Glucose . . . . .	194, 405, 545 433, S. 50	205	(Korr. 208°.) Unlöslich in kochendem Wasser. Chemische Zusammensetzung: C 60,33%, H 6,14%, N 15,64%.
Fructose . . . . .			
Mannose . . . . .			
Maltose . . . . .	194, 423	205	(Korr. 208).
Isoglykuronsäure (Pseudolävulose) . . . . .	112	205	Hergestellt von Külz.
Leber (Frosch, Kaninchen) hydrol. . . . .	356	205	Vor der sauren Hydrolyse waren die Osazone in heissem Wasser löslich, nach der Hydrolyse wurden in heissem Wasser unlösliche Osazone erhalten. Der Schmelzpunkt blieb aber unverändert.
Blut . . . . .	38	206	Löslich in Äther, während sowohl Glucosazon als Maltosazon darin vollkommen unlöslich sind.
Cellobiose . . . . .	545	208—210	Osazon.
Blut <sup>1</sup> (Rind, Stier, Pferd) .	29a	209—210 (korr.)	Bei schnellem Erhitzen (1° pro 2—3 Sek.)
Glykuronsäure . . . . .	388	210—217	Nach wiederholtem Umkristallisieren.
Rinderserumglobulin, hydrolysiert . . . . .	171	212	
d-Glucose . . . . .	545	213—217	Osazon.
Isoglykuronsäure (Harn)	112	223 Maq.	Osazon. N = 14,80—14,99%.
Glucose . . . . .	108, 240	230—232 Maq.	
Blut, hydrol. . . . .	453, S. 188	230—232 Maq.	

In obenstehender Liste ist wiederholt die Rede von einem Osazon mit Schmelzpunkt  $\pm 153^{\circ}$ , das unter anderem von Pavy und Siau und von Panormoff hergestellt und als das Osazon der Isomaltose (= Glucose- $\beta$ -Glucosid) betrachtet wurde. Osborne und Zobel (423) aber meinten, in Anlehnung an die Angaben von Brown und Morris (Trans. chem. Soc. 1895, 702), dass hier, in Blut und Organen, keine Rede von echtem Isomaltosazon ist, sondern, dass sie einfach Maltosazon in Händen hatten, dessen Schmelzpunkt durch die Anwesenheit eines amorphen Osazons einer dextrinartigen Substanz geändert war. [Für weitere diesbezügliche Literatur s. Pavy und Siau (437).] Es gelang Osborne c. s. auch, ein Osazon mit demselben

<sup>1</sup> Möglichkeit schwacher Hydrolyse.

Schmelzpunkt herzustellen aus Glykogen, das durch Speichel, Taka-Diastase, Pankreassaft oder Malzdiastase partiell verdaut worden war; weiter auch in der Weise, dass er aus chemisch reiner Maltose hergestelltes Maltosazon (Sm. 205°) mit den Muskelosazonen mischte und dann aufs neue krystallisieren liess. Demgegenüber fand Lemaire (322a), dass, wenn er aus Harn hergestelltes Isomaltosazon mit reinem Maltosazon zusammen löste und dann aufs neue auskrystallisieren liess, beide Krystalle wiederum deutlich getrennt erhalten werden konnten: das Maltosazon behielt dabei seinen Schmelzpunkt (206°) unverändert bei. Und auch wenn reines Maltosazon in der Mutterlauge des „Isomaltosazons“ gelöst wurde, krystallisierte sie daraus wiederum unverändert (Sm. 206°) aus. Die Einwände von Brown und Morris scheinen also wohl hinfällig.

Nach Pavy und Siau (437) hat seinerzeit Emil Fischer den Namen Isomaltose vorgeschlagen für ein Produkt, das er bei der Einwirkung von rauchender Salzsäure auf Glucose in der Kälte erhielt; es soll ihm aber nie gelungen sein, die Substanz als solche zu isolieren. Ihr Osazon schmolz bei etwa 153°, war löslich in heissem Wasser und hatte die chemische Zusammensetzung eines Disaccharidosazons. Später hat man auch gemeint, es aus verschiedenen industriellen Abfallprodukten herstellen zu können; auch in diesem Falle aber soll bisweilen nicht das echte Isomaltosazon zugegen gewesen sein, sondern Maltosazon, dessen Eigenschaften sich unter Einfluss einer Beimischung (eines nicht krystallisierbaren Osazons eines Maltodextrins) stark geändert haben. [Für diesbezügliche Literatur s. Pavy c. s. (437).] Wie dem auch sei, es ist auffällig, dass so oft der Schmelzpunkt zwischen 152 und 160° gefunden wurde. Dies spricht sicher nicht dafür, dass es sich hier um ein willkürliches Gemisch zweier Osazone handle.

Mayer (388, 389) glaubte zeigen zu können, dass das von Pavy aus Blut als Osazon (Sm. 157—158°) isolierte und als Isomaltose identifizierte „Kohlenhydrat“ in Wirklichkeit vielleicht eine Pentose, wahrscheinlicher aber Glykuronsäure war, von der verschiedene Phenylhydrazinverbindungen, unter anderem mit Schmelzpunkt 159—164°, bekannt sind.

Eine Aufzählung der verschiedenen charakteristischen Eigenschaften des Ribose-Osazons findet sich bei Winter (537).

Die Zuckerphosphorsäureester liefern phosphorhaltige Osazone; so gibt Armstrong (5, S. 83) an, dass die Hexosediphosphate von Glucose, Fructose oder Mannose,  $C_6H_{10}O_4(PO_4H_2)_2$ , mit Phenylhydrazin unter Austritt einer Phosphorsäuregruppe ein Osazon  $(H_2PO_4)C_6H_6(OH)_3(NH.Ph)_2$  (Sm. 151°) bilden. Ein mit dem obenstehenden isomeres Osazon (Sm. 135—139°) erhielt Robison (462a) aus der Hexosemonophosphorsäure [ $\alpha_D^{20} = +25^\circ$ ] die bei Einwirkung von Hefesaft auf Glucose oder Fructose entsteht. Dieses Hexose-

phosphat soll ausser durch Säuren auch durch Emulsin zerlegbar sein. Darauf kommen wir weiter unten noch zurück.

Ausser mit Phenylhydrazin geben auch viele organische Substanzen mit Derivaten des Phenylhydrazins charakteristische Produkte. Wir erwähnen nur:

**Methylphenylhydrazin** (asymm.). In den letzten Jahren ist gerade diese Substanz von Bedeutung geworden als Reagens auf Galaktose, die jetzt schon in verschiedener gebundenen Form im Körper angetroffen ist. So zeigte z. B. Walz (532), dass die Rindermilz diese Zuckerart enthält. Aus der essigsäuren Lösung des Hydrolysenproduktes setzte sich nach Zusatz von Methylphenylhydrazin nach einigen Stunden Stehen bei Zimmertemperatur Galaktosemethylphenylhydrazon ab, das nach Umkrystallisieren aus wasserhaltigem Alkohol, rein weiss war und bei 186° unter Zersetzung schmolz, während die Literatur Werte von 182—191° erwähnt. Einige weitere Werte stellen wir in der folgenden Tabelle zusammen.

Schmelzpunkte der Methylphenylhydrazinverbindungen.

Substanz	Zitat	Schmelzpunkt	Besonderheiten
l-Xylose . . . . .	545	103—110°	Hydrazon.
d-Fructose . . . . .	545	116—120	Hydrazon.
Rhamnose . . . . .	545	124	Hydrazon.
Dioxyaceton . . . . .	480	127—130	Osazon. Gelbliche Nadeln.
(d-Glucose . . . . .	545	142—144	Osazon. S. unten)
i-Tagatose . . . . .	480	148—150	Osazon. Gelbe Nadeln.
d-Fructose . . . . .	480, 416a	153 nach Kry- stall. aus Alkohol	Osazon. Gelbrote verfilzte Na- deln.
		158—160 nach Krystall. aus Wasser-Pyridin	
r-Fructose . . . . .	480	158	Osazon. Rötlich-gelbe Nadeln.
i-Erythrose . . . . .	480	158—159	Osazon. Gelbe Nadeln.
d-Fructose . . . . .	545	158—160	Osazon.
l-Arabinose . . . . .	545	161—164	Hydrazon.
d-Arabinoketose . . . . .	480	172	Osazon. Orangerote Nadeln.
i-Xyloketose . . . . .	480	173	Osazon. Feine gelbe Nadel- chen.
i-Riboketose . . . . .	480	175	Osazon. Gelbe Nadeln.
d-Galaktose . . . . .	545	180—191	Hydrazon.
Rhodeose . . . . .	545	181	Hydrazon.
Milz (Rind), hydrol. . . . .	532	186	
d-Galaktose . . . . .	118	190	Hydrazon.

Schmidt (480) bringt in Erinnerung, dass es nach Neuberg für Ketosen spezifisch ist, dass sie unter bestimmten Bedingungen mit Methylphenylhydrazin — immer stark gefärbte — Osazone bilden, während Aldosen damit nur farblose Hydrazone liefern. So kann man aus einem neutralen Gemisch zuerst die Hydrazone der Aldosen gewinnen; erhitzt man dann nach Ansäuern

mit Essigsäure, dann setzen sich auch die Osazone der Ketosen ab. In dieser Weise kann man Aldosen und Ketosen trennen. Für die Osazonherstellung gibt Schmidt folgendes Beispiel:

Man löst 1,8 g Fructose in 10 ccm Wasser, setzt 4 g Methylphenylhydrazin zu und so viel Alkohol, bis das Gemisch aufhellt. Nach Zusatz von 4 ccm 50%iger Essigsäure erhitzt man während 5 bis höchstens 10 Minuten auf dem Wasserbade. Lässt man dann die Flüssigkeit bedeckt stehen, so beginnt die Krystallisation nach  $\frac{1}{4}$  Stunde und ist nach 2 Stunden vollendet. Kratzt man, sobald die ersten Krystalle erscheinen, oder impft, so erstarrt alles schnell zu einem dicken Brei von verfilzten gelbroten Nadeln, die man aus (nicht zu viel) etwa 10%igem warmen Alkohol umkrystallisieren kann.

Ein weiteres Differenzierungsmittel sind die **ortho-, meta- und para-Nitrophenylhydrazine**: einige charakteristische Schmelzpunkte ihrer Verbindungen stellen wir wieder in Tabellenform zusammen.

Schmelzpunkte der Nitrophenylhydrazinverbindungen.

Substanz	Zitat	Schmelzpunkt			Bemerkungen
		para	meta	ortho	
Methylnonylketon . . . .	118	90°	—	—	—
Butyraldehyd . . . . .	118	91	—	—	—
Valeraldehyd (normal) . .	118	109	—	—	—
Methyläthylketon . . . .	118	120	—	—	—
Propylaldehyd . . . . .	118	123	—	—	—
Acetaldehyd . . . . .	118	128	—	—	Hydrazon.
Isobutyraldehyd. . . . .	118	132	—	—	—
Xylose . . . . .	480	154—155	120—130	—	Hydrazon.
Fructose . . . . .	118, 480	176	—	155—156	Hydrazon.
Formaldehyd . . . . .	118	181	—	—	—
Arabinose . . . . .	480	181—182	179—180	180	Hydrazon.
Rhamnose . . . . .	480	185	104—105	151	Hydrazon.
Glucose . . . . .	480	187—188	{ 115—116 228	148	Hydrazon. Osazon.
Galaktose . . . . .	480	194	181—182	172	Hydrazon.
Mannose . . . . .	480	194—195	162—163	173	Hydrazon.
Glyoxylsäure . . . . .	118	±200	—	—	—

Schmidt (480) empfiehlt folgende Technik der Darstellung:

Hydrazon: z. B. 2 g Glucose auflösen in 15 ccm Alkohol und möglichst wenig Wasser. Dann eine Lösung von 1,6 g m-Nitrophenylhydrazin in 10 ccm Alkohol zusetzen,  $\frac{1}{4}$  Stunde auf dem Wasserbade erhitzen. Beim Abkühlen nach dem Abdampfen setzt sich das Hydrazon ab. Aus Alkohol umkrystallisiert schmelzen die gelben Krystalle bei 115—116°.

Osazon: z. B. 2 g Glucose auflösen in 15 ccm Eisessig; bei Zimmertemperatur 1,6 g m-Nitrophenylhydrazin, in 15 ccm Eisessig gelöst, zusetzen. Nach lange dauerndem Stehen über CaO schmutzigbraune Masse; diese wird ausgekocht mit Alkohol und Äther. Was dann noch übrig bleibt, schmilzt bei 228° und ist das rotbraune Osazon.

Für einige Substanzen hat man auch noch ein brauchbares Erkennungsmittel im **para-Bromphenylhydrazin**.

Dies ist besonders wichtig dadurch, dass es die Identifizierung der Glykuronsäure gestattet, im Gegensatz zum Phenylhydrazin, das eine ganze

Reihe von Glykuronsäureverbindungen liefern kann (Hydrazon, Osazon, Hydrazid, Hydrazonhydrazid, Osazonhydrazid, Hydrazinsalze und innere Kondensationsprodukte), von denen keines konstant reproduzierbar ist. Die charakteristische *p*-Bromphenylhydrazinverbindung der Glykuronsäure schmilzt bei 236° [Neuberg: Ber. dtsh. chem. Ges. **32**, 2395 (1899)].

Weitere Daten finden sich in untenstehender Tabelle.

Schmelzpunkte der Parabromphenylhydrazinverbindungen.

Substanz	Zitat	Schmelzpunkt	Bemerkungen
l-Xylose . . . . .	545	128°	Hydrazon.
l-Arabinose . . . . .	118, 545	162	Hydrazon.
d-Glucose . . . . .	545	164—166	Hydrazon.
l-Arabinose . . . . .	545	196—200	Osazon.
Isoglykuronsäure . . . . .	112	197 Maq.	Osazon.
Maltose . . . . .	545	198	Osazon.
l-Xylose . . . . .	545	208	Osazon.
d-Mannose . . . . .	545	208—210	Hydrazon.
Rhamnose . . . . .	545	215	Osazon.
d-Glucose, Fructose . . . . .	112	222 Maq.	Osazon.
Glykuronsäure . . . . .	26a,		Chemische Natur unbekannt. Unlöslich in absolutem Alkohol. $[\alpha]_D = -369^\circ$ .
	Neuberg, l. c.	236	
Glykuronsäure . . . . .	112	236 Maq.	

Schliesslich hat Schönheimer (483) zur Auffindung der Galaktose das **o-Tolyhydrazin** benutzt; 150 mg der aus einem malignen Hypernephrom hergestellten zuckerartigen Substanz wurden mit 150 mg des Reagens, 3 Tropfen Wasser und 3 ccm Alkohol  $\frac{1}{2}$  Stunde auf dem Wasserbade erhitzt unter wiederholtem Ersatz des verdunsteten Alkohols. Nach Abkühlen setzten sich gelbliche Krystalle ab, die, einmal aus Wasser und einmal aus Alkohol umkrystallisiert, tatsächlich einen Schmelzpunkt von 175° aufwiesen.

Die zur Charakterisierung aldehydartiger Substanzen so brauchbaren Verbindungen mit **Carbazid** und **Thiosemicarbazid** scheint man bisher noch gar nicht herangezogen zu haben.

Das sind also die verschiedenen Mittel, die man aus der Hydrazingruppe wählen kann, aber leider nur in ganz wenigen Fällen angewandt hat, zur Erkennung der verschiedenen reduzierenden kohlenhydratartigen Substanzen, die vor und nach saurer Hydrolyse von Organen und Körperflüssigkeiten zugegen sind.

## B. Vergärung.

Ein weiteres Identifikationsmittel, das man oft weit überschätzt hat, ist die Vergärbarkeit. An anderer Stelle (s. S. 20) haben wir uns darüber schon näher ausgelassen; darauf sei hier verwiesen, denn das dort hinsichtlich des freien Blutzuckers Gesagte gilt in vollem Umfange auch von den nach

Hydrolyse abgespaltenen reduzierenden Substanzen. Nur erwähnen wir hier noch die Behauptung von Lépine und Boulud (332), dass der gesamte Blutzucker, also auch der aus allen gebundenen Fraktionen, vergärbar sei.

### C. Farbreaktionen.

Ebensowenig befriedigend als Mittel zum exakten Nachweis der chemischen Natur der Substanzen, die uns hier interessieren, sind die gebräuchlichen Farbreaktionen. Davon nennen wir folgende:

#### 1. Die $\alpha$ -Naphtholreaktion nach M o l i s c h.

Diese wird nach der Vorschrift von Neuberg (407) folgendermassen angestellt:

$\frac{1}{2}$  ccm der verdünnten wässrigen Lösung des zu identifizierenden Kohlenhydrates wird versetzt mit einem Tropfen einer kalt gesättigten alkoholischen  $\alpha$ -Naphthollösung; dann lässt man längs der Wand des Reagenzrohres vorsichtig 1 ccm starker Schwefelsäure zufließen. An der Berührungsfäche der beiden Schichten entsteht dann alsbald ein violetter Ring. Sind Spuren  $\text{HNO}_2$  zugegen, so tritt zugleich ein hellgrüner Saum auf. Schüttelt man, unter Kühlen mit kaltem Wasser, den Inhalt des Röhrchens gut durch, so wird die Flüssigkeit rot bis blauviolett und zeigt spektroskopisch eine Totalabsorption des Blaus und des Violetts, neben einem schmalen Streifen zwischen D und E, der alsbald verschwindet.

Nach Winter und Smith kann man diese Reaktion noch verschärfen dadurch, dass man statt Schwefelsäure starke HCl verwendet (538). Die Reaktion soll im allgemeinen für Kohlenhydrate charakteristisch sein; auch einige niedere aliphatische Verbindungen geben sie aber, wie aus untenstehender Tabelle ersichtlich; sie gestattet keine Differenzierung.

#### 2. Die Resoreinreaktion nach S e l i w a n o f f.

Auch für diese geben wir wieder die Vorschrift von Neuberg (407):

Man erhitzt eine Spur der Zuckerlösung mit 2 ccm eines Gemisches von gleichen Volumina rauchender Salzsäure und Wasser, und setzt einige Resoreinkristalle zu. Beim Erwärmen färbt sich die Flüssigkeit tiefrot, und allmählich schlägt ein braunroter Farbstoff nieder, der in Alkohol sich wieder tiefrot löst.

#### 3. Die Phloroglucinreaktion nach T o l l e n s.

Für diese lautet die Vorschrift (407):

Einigen Kubikzentimetern rauchender Salzsäure setzt man soviel Kubikzentimeter der wässrigen Zuckerlösung zu, dass der resultierende HCl-Gehalt etwa übereinstimmt mit einer Säure vom S. G. 1,09 (etwa 18 $\%$ ); dann fügt man soviel Phloroglucin zu, dass in der Wärme eine Spur ungelöst bleibt. Beim Erhitzen entsteht alsbald eine kirschrote Farbe, und allmählich scheidet sich ein dunkler Farbstoff ab. Dieser lässt sich nach Abkühlen mit Amylalkohol ausschütteln: die rote Lösung zeigt spektroskopisch einen Absorptionsstreifen in der Mitte zwischen D und E.

#### 4. Die Orcinreaktion nach T o l l e n s (407).

Beim Erwärmen der Zuckerlösung mit etwas Orcin und soviel HCl, dass der Gesamtgehalt etwa 18 $\%$  beträgt, treten nacheinander zuerst Rot-, dann Violett- und schliesslich Blau-

grünfärbung auf. Alsbald sinken blaugrüne Flocken zu Boden, die sich in Amylalkohol zu einer blaugrünen Flüssigkeit lösen. Spektroskopisch weist diese einen Absorptionsstreifen zwischen C und D auf, derart, dass ein Teil des Gelb noch sichtbar bleibt.

Welche Bedeutung hat nun der Ausfall dieser Reaktionen? Die  $\alpha$ -Naphtholreaktion wird mehr oder weniger schön von allen Kohlenhydraten gegeben. Die Resorcinprobe aber ist nur positiv bei den Ketosen aller Reihen: Galtose, Tagatose,  $\varphi$ -Tagatose, Sorbose und Fructose, Pseudo-fructose, Arabinoketose, Ketotetrose und Dioxyaceton, schliesslich d-Oxyglukonsäure  $\text{CH}_2\text{OH.CO.}(\text{CHOH})_3.\text{COOH}$  und manche Arten von Cellulose (Filtrierpapier) und bei den Polysacchariden, die bei Hydrolyse Fructose liefern, wie Rohrzucker, Raffinose, Inulin, Stachyose, Secalose und Lupeose (416a). Die Phloroglucin- und Orcinreaktionen endlich sollen charakteristisch sein für Pentosen und die Pentosecarbonsäure Glykuronsäure bzw. Verbindungen, die diese enthalten, wie Pentosane und gepaarte Glykuronsäuren (407).

Wir entnehmen der Arbeit Neubergs folgende Tabelle betreffs des Verhaltens einiger niederer Zuckerverwandte:

Substanz	$\alpha$ -Naphthol	Resorcin	Phloroglucin	Orcin
Glykolaldehyd . . . . .	+	—	—	—
Glycerinaldehyd . . . . .	+	—	+(schwach)	+
Glycerose	+	+	—	+
(Glycerinalde- hyd + Dioxy- aceton) } Mit NaOBr hergestellt Aus Bleiglycerat . . .				
l-Erythrose . . . . .	+	—	+(schwach)	—
i-Tetrose . . . . .	+	+	+(schwach)	—
d-Lyxose . . . . .	+	—	+	+
d-Oxyglukonsäure . . . . .	+	+	+	+
Aldehydschleimsäure . . . . .	+	—	+	+
Formose . . . . .	+	+	+	+
Furfurol . . . . .	+	—	—	— oder schwach +

Glykolaldehyd und die Tetrosen zeigen eine negative Orcinreaktion; es entsteht zwar ein grüner Niederschlag, der in Amylalkohol sich zu einer hellgrünen Flüssigkeit löst, aber diese Lösung zeigt nicht den charakteristischen Absorptionsstreifen. Die Orcinreaktion soll schärfer sein als die Phloroglucinreaktion; sie wird nur geliefert von den Pentosen und ihren Carbonsäuren und den Triosen. Umber (524) hat darauf aufmerksam gemacht, dass oft Filtrierpapier, auch das bestgereinigte, Substanzen, welche die genannten Reaktionen zeigen, an die filtrierende Flüssigkeit abgibt, besonders wenn diese etwas alkalisch ist. Vor dieser Fehlerquelle sei deshalb gewarnt. Neuberg (405) wies darauf hin, dass die Orcinreaktion nicht nur

von Pentosen, sondern auch von den daraus dargestellten Pentosazonen geliefert wird, ebenso wie die gleich noch zu besprechende Naphthoresorcinreaktion sowohl von Glykuronsäure wie von Glykuronsäureosazon. Hexosazone aber zeigen keine von beiden, so dass man auch in dieser Weise einigermaßen eine Differenzierung ausführen kann.

### 5. Naphthoresorcinreaktion nach Neuberg und Saneyoshi (415).

Technik: Eine Messerspitze (etwa 0,008 g) Glykuronsäureosazon z. B. kocht man während 1 Minute zusammen mit 4 ccm rauchender Salzsäure, 4 ccm Aq. dest. und etwa 100 mg Naphthoresorcin. Man kühlt unter dem Wasserhahn bis zu 50°. 1 ccm des trüben graublauen Gemisches schüttelt man aus mit etwa 1 ccm Benzol: dieser färbt sich hell violettrot und zeigt spektroskopisch ein Absorptionsband im Gelbgrün.

Diese Reaktion sei für Glykuronsäure spezifisch.

Sind andere Osazone zugegen oder kocht man zu lange, so verschwindet der Farbstoff wieder. Dann muss man das Gemisch der Osazone mit rauchender Salzsäure bei Zimmertemperatur schütteln, damit möglichst viel in Lösung geht. Der schwarzbraunen Flüssigkeit setzt man dann ein gleiches Volumen Wasser zu, kocht auf, setzt dann erst genügend Naphthoresorcin zu (soviel, dass nicht alles von den anderen Substanzen festgelegt werden kann, sondern noch etwas für die Glykuronsäure übrig bleibt) und erhitzt dann nochmals eine halbe Minute. Kühlt man dann langsam auf 50° ab, so bekommt man nach Ausschütteln mit Benzol die charakteristische Farbe und den typischen Absorptionsstreifen.

Auch die Parabromphenylhydrazinverbindung und alle die verschiedenen Phenylhydrazinderivate der Glykuronsäure zeigen die positive Naphthoresorcinreaktion. Pentosazone (von Arabinose, Xylose) liefern zwar einen rötlichen Farbstoff, dieser geht aber nicht in Benzol über. Die Reaktion soll 1 mg Glykuronsäure noch deutlich zeigen.

Zum Schluss erwähnen wir noch einige neuere Methoden, die noch sehr wenig bekannt sind, aber für unseren Zweck vielleicht noch Dienste leisten können. Im Prinzip sind sie aber, ebenso wie die vorigen, alle Variationen auf dasselbe Thema.

### 6. $\alpha$ -Naphtholreaktion nach Denigès (156).

Dies ist eine Modifikation der Molisch-Reaktion, die aber in Gegensatz zu dieser, eine ziemlich weitgehende Differenzierung gestatten soll.

Technik: In ein Reagenzrohr bringt man 0,1 ccm der etwa 1%igen wässrigen Lösung des zu bestimmenden Zuckers, setzt dann etwa 20 mg  $\alpha$ -Naphthol und 1 ccm 90—95%igen Alkohol zu (oder besser 1 ccm einer Lösung von 2 g  $\alpha$ -Naphthol in 100 ccm 90—95%igem Alkohol). Wenn alles gelöst ist (im ersten Fall, im zweiten sofort), setzt man 2 ccm  $H_2SO_4$  vom S. G. 1,80 zu. (Diese Säure erhält man, wenn man zu 10 ccm Aq. dest. 50 ccm Acid. sulfur. conc. pur., S. G. 1,84 zusetzt.) Man schüttelt das Reagenzrohr ein wenig und betrachtet sofort den Inhalt. Dieser zeigt dann folgende Besonderheiten:

Hexosen. a) Stark rotviolette, dann violette Farbe, die schön violett wird bei Zusatz von Essigsäure und violettrot mit alkoholischer Schwefelsäure (2 Vol.  $H_2SO_4$  vom S. G. 1,84

zusetzen zu 1 Vol. 90—95%igem Alkohol). Starkes Absorptionsband mit Maximum im Grün-gelb, aber auch in einem Teil des Blau . . . . . Fructose.

b) Grenadinrot, dann blutrot, auf Zusatz von 4 Vol. Essigsäure sich fast vollkommen entfärbend, nach Versetzen mit alkoholischer Schwefelsäure hell grenadinrot . . . . . Mannose.

c) Gelb, dann allmählich (besonders bei Glucose) gelbrot und schliesslich grenadinrot. Nachdem die Stoffe etwa 2 Minuten vermischt gewesen sind, giesst man 1 ccm der Flüssigkeit in ein Reagensrohr und setzt unter Schütteln 4 ccm der alkoholischen Schwefelsäure zu. Die Flüssigkeit wird

dunkelgelb mit breitem und sehr starkem Band im Blau . . . . . Galaktose.

goldgelb mit breitem aber sehr schwachem Band im Blau . . . . . Glucose.

Pentosen: a) Die Flüssigkeit wird dunkel rötlichgelb, welche Farbe schnell in Braun übergeht. Nachdem das Gemisch 2 Minuten zusammen gewesen ist, setzt man 6 ccm Essigsäure zu und mischt; man erhält eine tiefgelbe Flüssigkeit mit 3 Absorptionsbändern, von denen ein breites im Blau, ein feines im Grün-gelb und ein noch feineres im Rot liegen . . . . . Rhamnose.

b) Zuerst weinfarben, dann weinmutterfarben. 1 ccm des Gemisches, 2 Minuten nach dem Zusammenbringen versetzen mit 2 ccm Essigsäure und einige Sekunden aufkochen: violettblau . . . . . Xylose.

grünblau . . . . . Arabinose.

### 7. $\beta$ -Naphtholreaktion nach Denigès (156).

Diese Reaktion wird in genau derselben Weise angestellt wie die vorige, nur wird im Reagens das  $\alpha$ -Naphthol durch  $\beta$ -Naphthol ersetzt.

Man erhält eine schmutziggelbe oder grünlichgelbe, später bräunliche Farbe. Nach etwa 2 Minuten setzt man 3 ccm Essigsäure zu und mischt. Die Flüssigkeit wird mehr oder weniger stark grünlichgelb, mit sehr starker grüner Fluorescenz. Spektroskopisch:

a) Feiner, nach kurzer Zeit verschwindender Streifen im Gelb, breites Band im Blau, starkes bleibendes Band in der Mitte des Rotes, das sogar allmählich stärker wird; ausserdem wird die Flüssigkeit nach einer Stunde hellgrün . . . . . Rhamnose.

b) Kein Band im Rot . . . . . { Arabinose.  
Xylose.

Nach einer Stunde wird die Flüssigkeit bräunlichgelb und zeigt nun ein schönes Spektrum mit 3 Bändern in Rot, Gelb und Blau.

c) Das Reagens gibt eine intensiv weinrote Farbe mit . . . . . Fructose.

Die anderen Hexosen können aber nicht damit voneinander unterschieden werden.

### 8. $\beta$ -Naphtholreaktion nach Thomas (521).

Diese Methode soll sich besonders eignen zur Erkennung der Pentosen.

Die Herstellung des Reagens ist äusserst einfach: man löst 300 mg  $\beta$ -Naphthol in 100 ccm konzentrierter Schwefelsäure; das Reagens bleibt einige Tage lang brauchbar. Man bringt 3 bis 4 ccm davon in ein reines, trockenes Reagensrohr und lässt darauf längs den Wänden vorsichtig 1 ccm der höchstens 1% Zucker enthaltenden Zuckerlösung zufließen. Wenn sich nicht schnell an der Berührungsfläche ein blauer Ring bildet (Pentosen), muss man ohne Schütteln das Röhrchen um seine Achse drehen. So soll es möglich sein, Pentosen auf die Spur zu kommen bei Gegenwart der 30—50fachen Menge Glucose. Es soll keine Furfuroreaktion sein. Thomas gibt folgende Übersicht:

C <sub>1</sub> Formaldehyd	H—CHO	gelblichbraun, grüne Fluorescenz.
C <sub>2</sub> Acetaldehyd	CH <sub>3</sub> —CHO	zitronengelb, grüne Fluorescenz.
Glykolaldehyd	CH <sub>2</sub> OH—CHO	emeraldgrün, grüne Fluorescenz.
Glyoxylsäure	COOH—CHO	grün, grüne Fluorescenz.
C <sub>3</sub> Propionaldehyd	CH <sub>3</sub> —CH <sub>2</sub> —CHO	orange-gelb, grüne Fluorescenz.
Glycerinaldehyd	CH <sub>2</sub> OH—CHOH—CHO	grün, grüne Fluorescenz.
Aceton	CH <sub>3</sub> —CO—CH <sub>3</sub>	blassgelb, später Fluorescenz.

Acetylcarbinol	$\text{CH}_3\text{—CO—CH}_2\text{OH}$	grün, oben braun.
Dioxyaceton	$\text{CH}_2\text{OH—CO—CH}_2\text{OH}$	grün, grüne Fluorescenz.
Brenztraubensäure	$\text{CH}_3\text{—CO—COOH}$	blassgelb.
Mesoxalsäure	$\text{COOH—CO—COOH}$	tiefgrün, oben braun, grüne Fluorescenz.
C <sub>4</sub> Butylaldehyd	$\text{CH}_3\text{—(CH}_2\text{)}_2\text{—CHO}$	gelb, grüne Fluorescenz.
β-Oxybuttersäure	$\text{CH}_3\text{—CHOH—CH}_2\text{—COOH}$	sehr blassgelb.
Acetessigsäure	$\text{CH}_3\text{—CO—CH}_2\text{—COOH}$	rotbraun.
Acetylmethylcarbinol	$\text{CH}_3\text{—CO—CHOH—CH}_3$	rotbraun, unten grün.
Diacetyl	$\text{CH}_3\text{—CO—CO—CH}_3$	rotbraun.
Erythrose	$\text{CH}_2\text{OH—CHOH—CHOH—CHO}$	smaragdgrün, Schwefelsäure lila.
Erythrulose	$\text{CH}_2\text{OH—CHOH—CO—CH}_2\text{OH}$	smaragdgrün, Schwefelsäure lila.
C <sub>5</sub> Isovaleriansäure	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagdown \\ \text{—CH—CH}_2\text{—CHO} \\ \diagup \\ \text{CH}_3 \end{array}$	grün, oben orange, grüne Fluor.
Furfurol	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{CH—CH—CH—C—CHO} \end{array}$	orangerot, oben grün, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> rosa.
Lävulinsäure	$\text{CH}_3\text{—CO—CH}_2\text{—CH}_2\text{—COOH}$	braunrot.
Arabinose, Xylose	$\text{CH}_2\text{OH—(CHOH)}_3\text{—CHO}$	ultramarin, Schwefelsäure blau.
Gummi arabicum, Kirschengummi		ultramarin, Schwefelsäure blau.
Hefenucleinsäure		ultramarin, Schwefelsäure blau.
C <sub>6</sub> Rhamnose	$\text{CH}_3\text{—(CHOH)}_4\text{—CHO}$	braun, unten grün.
Glucose, Mannose, Galaktose	$\text{CH}_2\text{OH—(CHOH)}_4\text{—CHO}$	grün, oben braun.
Fructose	$\text{CH}_2\text{OH—(CHOH)}_3\text{—CO—CH}_3$	tiefbraun, starke grüne Fluorescenz.
Glucosamin	$\text{CH}_2\text{OH—(CHOH)}_3\text{—CHNH}_2\text{—CHO}$	smaragdgrün.
Glykuronsäure	$\text{COOH—(CHOH)}_4\text{—CHO}$	karmosinrot.
Inosit, Quercit		blassgrün und gelb.
Glykogen		grün, oben braun.
Thymusnucleinsäure		braunrot.
C <sub>7</sub> Volemose, Volemulose		braunrot, unten grün.
Perseose, Perseulose		braunrot, unten grün.

## 9. Orcinreaktion nach Bertrand (28).

Technik: Einige Milligramm der zu untersuchenden Substanz werden mit etwa der gleichen Menge Orcin und 2—3 ccm reiner starker Salzsäure gelinde erhitzt auf 40—50° (nicht kochen, weil dann die Caramelisation stört!).

Innerhalb einiger Minuten:

mit Pentosen (Xylose, Arabinose) und ihren komplexen Verbindungen blauviolett  
mit Rhamnose, Fructose, Glucose, Galactose . . . . . Orangerot.

Auch die komplexen Verbindungen der letzten Gruppe entwickeln dieselbe Farbe.

Die Salzsäure muss stark sein (22° Beaumé, S. G. I.18). Versetzt man sie mit dem gleichen Volumen Wasser, so geben nur die sehr leicht in Furfurol übergelenden Zucker (Pentosen, Rhamnose, Ketohehexosen) die Reaktion, die Aldohehexosen und kondensierten Glucide dagegen nicht oder kaum. So kann man z. B. mit verdünnter Säure unterscheiden zwischen Methylpentosen, Ketohehexosen, Saccharose und Inulin, die noch die Reaktion geben einerseits, und Aldohehexosen, Lactose, Glykogen und Stärke, die dies nicht oder kaum mehr tun, andererseits. Die Pentosen geben sowohl mit verdünnter als mit starker Säure die violettblaue Farbe.

## 10. Orcinreaktion nach Neumann (416b).

In einem Reagenrohr erhitzt man 10 Tropfen (0,5 ccm) der zu untersuchenden Zuckerslösung mit 5 ccm 99%igem Eisessig und einigen Tropfen einer 5%igen alkoholischen Orcinlösung nach Umschütteln bis zum Kochen: dann setzt man aus einer Tropfflasche konzentrierte

Schwefelsäure zu und schüttelt nach jedem 5. Tropfen kräftig. Dies setzt man fort bis nach dem Schütteln eine deutliche Farbe bestehen bleibt; dieser Endpunkt ist von der Konzentration der Zuckerlösung abhängig. Mehr als 50 Tropfen dürfen aber nicht zugesetzt werden. Auch muss man, sobald eine Farbe erschienen ist, keine weitere Schwefelsäure mehr zusetzen, weil sonst Mischfarben entstehen oder die Farbe zu tief wird. Nach einigen Minuten untersucht man spektroskopisch.

Kohlenhydrat	Farbe	Absorptionsstreifen	Farbänderung auf Zusatz von Wasser oder Alkohol
Arabinose . . .	Rotviolett	Rechts von D: bedeckt Gelb und Gelbgrün.	Keine
Xylose . . . .	Blauviolett (kalt blau)	1. Rechts von C im Orange. 2. Wie bei Arabinose, aber schwächer. Beim Stehen nimmt die Intensität von 1 zu, die von 2 ab.	Keine
Glykuronsäure .	Grün	Links von C im Rot: weiter ist das ganze Spektrum überschattet.	Wird rötlich
Glucose . . . .	Braunrot	Im Grün, so dass vor dem Streifen noch Grün, dahinter Blau und Violett sichtbar ist.	Keine
Fructose . . .	Braun (kalt gelbbraun)	1. Links von C im Rot (wie bei Glykuronsäure). 2. Verdunkelung, anfangend wie bei Glucose, aber bis zum Ende des Spektrums reichend.	Wird gelbgrün

Best (29c) hat diese Reaktion mit eingeeingten enteieeissten Dekokten von Rinder- oder Pferdeblut angestellt, nachdem diese mittels Phosphorwolframsäure und 80%igem Alkohol von Dextrinen und weiteren Polysacchariden befreit waren. Immer entstand eine rotviolette oder blauviolette Farbe, und wies das Spektrum ein deutliches Absorptionsband im Gelb und Gelbgrün auf. Wasserzusatz hatte nie Farbänderung zur Folge. Daraus schliesst Best, dass offenbar im Blute ein Zucker mit Pentoseneigenschaften vorkomme.

#### D. Benzoylierung.

Panormoff (429) versuchte mittels Benzoylierung mit der Identifikation etwas weiter zu kommen. Aus Muskeln von Fischen erhielt er ohne vorherige Hydrolyse tatsächlich wahrscheinlich 5-Benzoylglucose, wenigstens nach Krystallform, Schmelzpunkt (165°) und reduzierendem Vermögen. Auch Best (29c) hat sich dieses Verfahrens bedient, um die Kohlenhydrate des Blutes „abzufangen“ und von ihren vielen Begleitstoffen zu trennen. Durch Verseifung liessen sich dann die ursprünglichen Zucker wieder regenerieren. Lemaire (422a) wandte es bei seiner Untersuchung der Kohlenhydrate des Harns ebenso mit Erfolg an.

### E. Optische Rotation.

Die optische Rotation der verschiedenen Zuckerarten ist wohlbekannt. Man hat sie auch einigemal zu benutzen versucht für die Identifizierung der reduzierenden Substanzen, die in den uns hier interessierenden Hydrolysaten vorkommen. Da aber in solchen Flüssigkeiten immer noch andere optisch aktive Substanzen in unbekannter Menge vorhanden sind, ist sie nicht von grosser Bedeutung geworden. Wo sie aber in Kombination mit anderen Methoden angewandt worden ist, werden wir sie noch in den folgenden Seiten erwähnen. Besser brauchbar ist vielleicht die optische Rotation der Osazone.

### F. Besondere physikalische Eigenschaften.

Schliesslich besitzen einige Kohlenhydrate noch andere charakteristische physikalische Eigenschaften. So hat man für die Isolierung einigemal die Eigenschaft benutzt, dass sie mit den Salzen von schweren Metallen in bestimmten Umständen niederschlagen, z. B. mit Bleiacetat [Adler und Adler (2), Neuberg und Ishida (409), Lävulose, Glucose, Arabinose] oder mit Kupfersalzen im bekannten Kupfer-Kalk-Verfahren [Bissinger (74), Yoshimoto (543)].

Was haben nun bisher alle diese Methoden für die Identifizierung des reduzierenden Hydrolyseproduktes des Blutes als Glucose geleistet?

Weitaus die meisten Forscher haben sich, wie aus dem Vorangehenden ersichtlich, damit begnügt, aus den Hydrolyseprodukten eine Phenylhydrazinverbindung herzustellen, deren Eigenschaften mehr oder weniger mit denen des Phenylglucosazons übereinstimmen.

Die einzigen Autoren, die die Sache etwas ausführlicher behandelt haben, sind Bierry und Fandard (42; 453 S. 214). Anfänglich waren ihre Daten noch sehr spärlich; sie stützen ihre Ansicht, dass es sich tatsächlich um Glucose handle, auf folgende Eigenschaften: Die optische Rotation, das reduzierende Vermögen, der Schmelzpunkt des Osazons sollen alle mit denen der Glucose übereingestimmt haben. Auch soll die Substanz sich gleichfalls aus ihrer alkoholischen Lösung mit Äther fraktioniert ausfällen lassen und vergärbare sein. Ihrer Ansicht nach enthalte sie höchstens 10% Glucosamin.

Wenn wir nun aber die Methoden, mit denen sie dies alles festgestellt zu haben glauben, etwas näher betrachten, so zeigt sich folgendes:

Will man den nach Hydrolyse in Freiheit gesetzten Zucker rein, d. h. ohne Verunreinigung mit dem ursprünglich schon im Blute vorhandenen „freien“ Blutzucker in Händen bekommen, so kann man nach diesen Autoren drei verschiedene Wege einschlagen: man kann erstens den freien

Zucker steril wegglykolyisieren, zweitens durch Lauge zerstören, und drittens vergären lassen.

Von diesen drei Methoden haben sie nun gerade die unrichtige gewählt, nämlich die Glykolyse, bei der, wie wir später (S. 148 usw.) sehen werden, und Bierry nachher selbst auch bestätigt hat, anfangs freie reduzierende Substanz mit anderen Blutelementen in eine Bindung tritt, aus der sie durch Hydrolyse mit Säure wieder in Freiheit gesetzt werden kann. Kein Wunder also, dass man dann wieder reduzierende Substanz findet! Betreffs der ursprünglich vorhandenen gebundenen reduzierenden Substanz besagt dies aber sehr wenig.

Sie enteieissten ihre Hydrolysate mit Mercurinitratlösung nach Patein-Dufau. Unsere Erfahrung bestätigt aber ihre eigene Mitteilung, dass nach einmaliger Enteieissung auch mittels dieser Methode die Flüssigkeit noch Verunreinigungen enthält; dies ist aber nicht eine zu vernachlässigende Fraktion, sondern nach genügendem Einengen zeigt sich, dass bei erneuter Anwendung des Reagens sich aufs neue grosse Massen ausfällen lassen. Dazu muss man dann die Flüssigkeit sowohl vor als nach der Neutralisation filtrieren oder zentrifugieren, da die zuerst in saurem Milieu niedergeschlagenen Substanzen sonst beim Neutralisieren teilweise wieder in Lösung gehen. Diese Vorsichtsmassnahme erwähnen die französischen Autoren garnicht, und deshalb muss diese Fraktion, die durch ihre Viscosität technisch äusserst störend ist, in ihren Präparaten noch vorhanden gewesen sein!

Wie erfolgte nun die Identifikation als Glucose? Mme Randoin teilt in ihrer Dissertation (453, S. 187) Näheres darüber mit; dies wirft ein eigenartiges Licht auf die Sicherheit, mit der sie früher, zusammen mit Bierry (42), glaubte erwiesen zu haben, dass tatsächlich Glucose die gesuchte Substanz sei. Es zeigt sich nämlich, dass sie diese Überzeugung gründeten auf die Tatsache, dass das gefundene Produkt:

1. Fehlingsche Lösung in der Wärme kräftig reduzierte.

2. Mit essigsauerm Phenylhydrazin in der Kälte kein Hydrazone bildete, in der Wärme aber charakteristische Phenylglucosazonkrystalle lieferte, die Besenginsterform hatten, und nach Umkrystallisieren bei 230—232° Maq. schmolzen. Solche Krystalle wurden sowohl aus Säugetier- als aus Vogelblut erhalten.

3. Optisch linksdrehend war (!) „mais ceci s'explique facilement par le fait qu'il reste dans les liqueurs des substances lévogyres qu'une défécation cependant rigoureuse n'a pas réussi à entraîner“. Dass diese auch wohl einmal reduzierend wirken könnten, daran scheinen sie keinen Augenblick gedacht zu haben! Bierry hat die linksdrehende Flüssigkeit viele Male nacheinander gereinigt und sah dabei die Linksdrehung allmählich geringer werden und schliesslich sogar in Rechtsdrehung übergehen. Es wird aber mit keinem Wort angegeben, inwieweit schliesslich optische Rotation und reduzierendes

Vermögen übereinstimmten, und ebensowenig, wieviel Prozent des anfänglich vorhandenen reduzierenden Vermögens bei all diesen Reinigungen wohl verloren gegangen war, geschweige denn noch vom Prozentgehalt der ursprünglich im Blute vorhanden gewesen sein sollte.

4. Soll nach ihrer späteren Betrachtungsweise gar kein Glucosamin zugegen gewesen sein, weil eine Aminosäurebestimmung nach Van Slyke nahezu negatives Ergebnis hatte.

5. Vergor das erhaltene Produkt mit Bierhefe.

6. Wurde es aus der alkoholischen Lösung durch Äther niedergeschlagen.

Dies sind dann die gesamten Gründe, auf denen die genannten Autoren ihre Meinung stützen, dass bei saurer Hydrolyse der Hy-S des Blutes Glucose in Freiheit gesetzt wird. Überzeugend ist das keineswegs. Eher könnte man, angesichts der Ergebnisse der genannten „Reinigung“, noch an die Möglichkeit denken, dass anfänglich eine isomere Verbindung der Glucose vorhanden war, die erst allmählich, im Verlauf der Verarbeitung, in gewöhnliche Glucose überging.

Neuerdings hat Bierry (39d) diese Versuche nochmals wiederholt: Arteriell Blut von Hunden und Vögeln wurde steril aufgefangen und mit Glasperlen defibriert, wonach man es steril glykolyisieren liess. Sobald der freie Zucker verschwunden war, wurde zentrifugiert. Das so erhaltene Serum wurde mit destilliertem Wasser versetzt: dann wurde Schwefelsäure hinzugegeben, die Flüssigkeit über viele Kölbchen verteilt, 30' im Autoklaven bei 120° behalten, dann die Schwefelsäure mit Baryt entfernt, das Eiweiss mit Mercurinitrat-NaOH gefällt, die Quecksilberreste mittels H<sub>2</sub>S weggenommen, das H<sub>2</sub>S verjagt und die so erhaltene Flüssigkeit in vacuo bei niedriger Temperatur eingeengt.

Diese Flüssigkeit reduzierte und war (ebenso wie bei der älteren Untersuchung) schwach linksdrehend. Mit essigsaurem Phenylhydrazin bildete sich in der Kälte kein unlösliches Hydrazon: Mannose war also auszuschliessen. Beim Erhitzen aber entstand ein charakteristisches Osazon in Besenginsterform, das in 50%igem Aceton unlöslich war; nach Reinigung aus Methylalkohol war der Schmelzpunkt 230—232° (Fusion instantanée, Bloc-Maquette); aus reiner Glucose hergestelltes Phenylglucosazon schmolz genau im selben Moment. Hiermit sei es also s. E. wohl identisch. Als Muttersubstanz kämen danach noch Glucose, Fructose, Glucosamin oder Gemische von diesen in Betracht.

Wurde die Zuckerlösung eingeengt und kalt mit hochprozentigem Alkohol behandelt, wonach die alkoholischen Auszüge eingeengt wurden und man den Rückstand davon nochmals mit konzentriertem Alkohol extrahierte, wurde dann dieser Extrakt mit wasserfreiem Äther fraktioniert gefällt und bisweilen zum Schluss noch das gesamte Kohlenhydrat mit ammoniakalischem basischem Bleiacetat niedergeschlagen und mit H<sub>2</sub>S wieder in Freiheit gesetzt,

so erhielt Bierry schliesslich eine Zuckerlösung, die statt links-, rechtsdrehend geworden war, und deren Reduktions- und Rotationsvermögen, auf Glucose berechnet, ziemlich gut stimmten. 82—90% des reduzierenden Vermögens verschwand bei der Vergärung. Mit Benzoylchlorid wurde ein geringer Niederschlag erhalten, der aber für eine Analyse zu gering war.

Nach dem Ergebnis einer Aminostickstoffbestimmung nach van Slyke könnte höchstens ein Fünfzehntel des reduzierenden Vermögens des Hydrolysats auf Anwesenheit von Glucosamin beruhen.

Zusammenfassend glaubt Bierry noch immer, dass es sich beim „Eiweisszucker“ um gebundene d-Glucose handle.

Die Tatsache, dass (mit HF hergestellte) Bluthydrolysate eine vergärbare reduzierende Substanz enthalten, war auch zuvor schon von Boulud (87) festgestellt worden, und zwar war nach ihm die Vergärung ebenso stark wie die einer gleichen Menge extrazugesetzter Glucose, sei es auch, dass in beiden Fällen das schwierig zu entfernende NaF einigermassen hemmend wirkte.

Angesichts dieser dürftigen Ergebnisse darf man aber nicht vergessen, dass die Identifizierung von Kohlenhydraten bei Anwesenheit von niederen Eiweissabbauprodukten eine äusserst schwierige Aufgabe darstellt. Neuberg und Ishida (409) haben eine Methode ausgearbeitet, die dies erleichtern soll: vielleicht kann der Hinweis dem einen oder andern Leser von Nutzen sein.

Wie wir später noch sehen werden, spielen im tierischen Organismus Hexosephosphatverbindungen eine sehr wichtige Rolle. Armstrong (5, S. 176) meint, dass in vivo der Abbau dieser Verbindungen über  $\gamma$ -Glucose verlaufe. Als charakteristisch für Irvines  $\gamma$ -Glucose gibt er an (5, S. 14): die Leichtigkeit, mit der sie sich mit Aceton kondensiert, das auffällige Vermögen alkalische Permanganatlösungen zu reduzieren, die Neigung, mit 1 Atom O ein neutrales Produkt zu geben, und die leichte Autokondensation dieser Oxyverbindung zu einer disaccharidartigen Substanz. Auch an eine solche Glucosemodifikation muss man deshalb denken. Irvine lässt aber selbst die Möglichkeit offen, dass die  $\gamma$ -Zucker keine chemische Individuen seien, sondern die bekannten  $\alpha$ - $\beta$ -Formen, die bei einer bestimmten Reaktion als Aldehyd bzw. Keton wirken.

Als Erkennungsmittel der Galaktose kann auch noch die Tatsache dienen, dass sie bei Oxydation Schleimsäure liefert und nicht, wie die Glucose, Zuckersäure (433, S. 17).

Was schliesslich die Identifikation der Glykuronsäure anlangt, so haben wir schon erwähnt, dass diese so viele atypische Phenylhydrazinverbindungen liefern kann, dass auf diesem Wege keine sichere Erkennung möglich ist. Wir haben auch schon mitgeteilt, dass wir im Parabromphenylhydrazin ein viel wertvolleres Reagens auf diese Substanz besitzen. Als weiteres Charakteristikum zeigt diese Glykuronsäureparabromphenylhydrazinverbindung nun

noch, ausser ihrem Schmelzpunkt, eine vollständige Unlöslichkeit in absolutem Alkohol, während alle anderen ähnlichen Hexose- und Pentoseverbindungen darin löslich sind [Mayer (389)]. Mit Hilfe dieser Methode gelang es nun diesem Autor auch tatsächlich, aus mit 1%iger Schwefelsäure hydrolysiertem Rinderblut diese Verbindung herzustellen. Dies zeigt, dass gepaarte Glykuronsäuren beim Rinde ein normaler Blutbestandteil sein können. Die gepaarten Glykuronsäuren sind ätherlöslich, die freie Säure hingegen nicht. Glykuronsäuresazon und Glucosazon haben nahezu denselben Schmelzpunkt, aber identisch sind sie nicht [Neuberg (405)].

Lépine (323, S. 20) glaubt dennoch, dass die Methode nach Bernier vor der Parabromphenylhydrazinmethode den Vorzug verdiene. Dabei entweicht man mit saurer Mercurinitratlösung, lässt das Filtrat vergären und behandelt es dann mit Phenylhydrazin: es entstehen sternförmige Krystalle einer Verbindung vom Schmelzpunkt 132—135°. Für die weitere Identifikation sei auf Stepp (509) und Cammidge (112, S. 163) verwiesen. Nur auf die Differentialdiagnose zwischen Glykuronsäure, Isoglykuronsäure (Pseudolävulose) und Lävulose (Fructose) wollen wir hier noch etwas näher eingehen: Zur Trennung von Lävulose und Isoglykuronsäure kann man die von Borchardat abgeänderte Reaktion nach Seliwanoff benutzen (112, S. 162): Zu 4 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit gibt man 1 ccm rauchender Salzsäure und eine Messerspitze Resorcin; erhitzt man dann bis zum Kochen, so zeigt eine rote Farbe die Anwesenheit einer von beiden an. Dann kühlt man ab und macht alkalisch mittels  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  in Substanz. Setzt man nun 2—3 ccm Äthylacetat zu und schüttelt, so gibt Lävulose einen roten Extrakt, Isoglykuronsäure einen gelben. Womöglich bestätige man die Identifikation noch dadurch, dass man das Parabromphenylosazon herstellt: das der Isoglykuronsäure schmilzt bei 197° Maq., das der echten Lävulose und Dextrose bei 222° Maq., das Parabromphenylhydrazon der Glykuronsäure bei 236° Maq. (112, S. 248). Auch gestattet diese Methode eine quantitative Bestimmung (112, S. 164).

Die Isoglykuronsäure reduziert alkalische Kupfer- und Wismutlösungen, sei es auch etwas träger als Glucose, und mit einem Niederschlag, der sich etwas langsamer absetzt (112, S. 154 u. 253). Sie ist linksdrehend und vergärbare. Aus der sauren Lösung wird sie, ebenso wie Glykuronsäure, von basischem Bleiacetat niedergeschlagen; aus alkalischer Lösung wird sie von löslichen Calciumsalzen zusammen mit Glykuronsäure und echter Lävulose gefällt, während Glucose in Lösung bleibt (112, S. 160).

Weiter krystallisiert die Isoglykuronsäure nicht aus, sondern ist nur als dicker, gelber, hygroskopischer Sirup bekannt, im Gegensatz zur gut krystallisierenden echten Lävulose. Sie zeigt eine positive Seliwanoff-Reaktion, ebenso wie Glykuronsäure. Für die weitere chemische Identifikation siehe Cammidge (112, S. 154 und 162). Nur muss hingewiesen werden auf

die Tatsache, dass Kütz mit der Capillarmethode für den Schmelzpunkt des Phenylsazons immer 205° fand, einen Wert also, der dem des Phenylglucosazons gleich war, während Cammidge, mit der Maquenne-Methode arbeitend, immer 223° fand, also 7—9° niedriger als bei Glucosazon. Kütz' Krystalle waren zwar in Bündel vereinigt, aber ziemlich grob. Die Elementarzusammensetzung kam in den Fällen von Cammidge sowohl beim Phenylsazon als beim Parabromphenylsazon nicht überein mit dem der gleichen Lävulosederivate; der N-Gehalt betrug beim Phenylsazon in zwei Analysen 14,80 und 14,99%.

Eine Untersuchung, von der man wegen der Verarbeitungstechnik leider nicht genau angeben kann, ob sie sich mit dem freien oder dem gebundenen Zucker beschäftigt hat, die aber wegen einiger wichtiger Ergebnisse wohl mehr Aufmerksamkeit verdient, als ihr bisher zu Teil wurde, ist die von Best (29c). Die Methode war folgende:

Frisches defibriniertes Pferde- oder Rinderblut wurde in Portionen von je 2 l derart enteiweißt, dass es unter stetem Rühren ausgegossen wurde in eine Pfanne, die 8 l kochendes Wasser und 90 ccm N/1 HCl enthielt. Während die ganze Masse weiter kochte, wurde noch so viel (meistens 10—25 ccm) N/1 HCl zugesetzt, dass auch nach 10 Minuten (!) dauerndem Kochen (!) die Reaktion der Flüssigkeit noch ganz schwach sauer (!) gegen Lackmus war. Dann wurde alles durch ein Metallsieb getrieben und am Saugfilter durch zusammengepresste Filterpapierpappe (!) filtriert. Das Koagulum wurde kräftig ausgepresst und auch der Presssaft filtriert: die vereinigten wasserhellen nahezu farblosen Filtrate wurden auf dem kochenden Wasserbade (Oxydation!) bei ganz schwach saurer (!) Reaktion bis auf etwa 500 ccm eingeengt und nochmals filtriert. Zur weiteren Entfernung von Eiweisssubstanzen wurden 50 ccm einer 10%igen Phosphorwolframsäurelösung in 5%  $H_2SO_4$  zugesetzt, das Ganze einigemal kräftig durchgerührt und nach dreistündigem Stehen filtriert. Das Filtrat wurde mit pulverisiertem  $Ba(OH)_2$  neutralisiert und aufs neue filtriert. Waren so Phosphorwolframsäure und  $H_2SO_4$  vollständig entfernt, so wurde das mit einigen Tropfen Essigsäure versetzte Filtrat weiter vorsichtig in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade eingeengt und so viel  $Na_2SO_4$  zugesetzt, dass keine weitere Trübung mehr entstand, dass alles Baryt also festgelegt war. Das  $BaSO_4$  wurde warm abfiltriert, das Filtrat auf etwa 50 ccm eingeengt und nochmals filtriert. Das so erhaltene, stark eingeengte Blutdekot soll nun neben Kohlenhydraten und Salzen nur wenig stickstoffhaltige Substanzen mehr enthalten, und die sofortige Isolierung der Zucker in Form ihrer Osazone gestatten. Zu diesem Zweck setzte man dann etwa 2 g salzsaures Phenylhydrazin, etwa 5 g Natriumacetat und noch einige Tropfen Essigsäure zu, schüttelte (wenn nötig unter gelinder Erwärmung), filtrierte und erhitzte das in einem mit einem Trichter abgedeckten Kochkölbchen befindliche Filtrat in dem kochenden Wasserbade während 1—1½ Stunden auf 100°.

Nach dem Kochen enthielt die Flüssigkeit einen reichlichen gelben krystallinischen Niederschlag, der aus der kochenden Masse abfiltriert wurde. Er zeigte unter dem Mikroskop Büschel von langen geraden gelben Krystallnadeln von der für Phenylglucosazon charakteristischen Form. Diese wurden gereinigt durch wiederholtes Waschen mit kochendem Wasser; sie waren darin deshalb unlöslich. In wenig Pyridin gelöst, krystallisierten sie daraus auf Zusatz von Wasser wieder aus. Diese Krystalle wurden abzentrifugiert und nochmals wiederholt aus Pyridin umkrystallisiert. Nochmals wurde das Osazon dann mit Wasser ausgekocht, einigemal mit kochendem Wasser gewaschen und schliesslich auf ein Uhrglas im Exsiccator getrocknet.

Bei schnellem Erhitzen (1° Temperatursteigerung in 2—3 Sekunden) war der Schmelzpunkt des so erhaltenen Osazons aus Rinderblut 209° (korr.), aus Stierblut 210° (korr.), aus Pferdeblut 209° (korr.). Diese Substanz war also wohl Phenylglucosazon. (Bei langsamem Erhitzen, 1° Temperatursteigerung in 6—8 Sekunden, war der gefundene Wert niedriger: 196—198°.)

Nachdem aus dem mit Phenylhydrazin behandelten Blutdekot durch heisses Filtrieren das Phenylglucosazon entfernt war, zeigte das Filtrat beim Abkühlen alsbald eine Trübung, und am nächsten Tage hatte sich aufs neue eine gelbe krystallinische Masse abgesetzt, die ganz anders aussah als das in warmem Wasser unlösliche Osazon; mikroskopisch waren die Nadeln immer viel kürzer und feiner, ausserdem oft gekrümmt und bisweilen zu dichten Kugeln und Rosetten vereinigt. Es wurde neben dem Glucosazon konstant angetroffen, und von Best vorläufig X-Osazon benannt.

Er reinigte es durch Abzentrifugieren, wiederholtem Waschen mit kaltem Wasser, Lösen in wenig Wasser unter langsamem Erhitzen bis etwa 90° und Filtrieren. Beim Erkalten setzen sich die Nadelchen wiederum ab. Dieselbe Prozedur kann man noch einigemal wiederholen; da aber dieses Osazon auch in kaltem Wasser nicht vollkommen unlöslich ist, muss man auf Verluste gefasst sein.

Das so gereinigte X-Osazon bestand aus feinen kurzen blassgelben Nadeln, die teilweise in Kugeln (wie beim Lactosazon), teilweise in Rosetten (wie beim Isomaltosazon) angeordnet waren, teils auch frei lagen. Daneben kamen dann und wann auch breitere flache Krystalle mit abgerundeten Enden (wie beim Maltosazon) vor. Best selber ist aber überzeugt, dass die Krystallform an sich sehr variabel ist und geringe Bedeutung hat.

Das X-Osazon löst sich vollkommen in etwa der 50fachen Menge Wasser von etwa 90°; die Löslichkeit ist also doch geringer als die des Isomaltosazons, das sich schon in der vierfachen Menge Wasser lösen soll.

Die Farbe der Krystalle wird schon beim Trocknen in vacuo bei Zimmertemperatur dunkler, bei etwa 150° wird sie tiefbraun. Die Krystalle sintern bei etwa 178° und schmelzen bei 186 bis 191° (korr.), bei langsamer Erhitzung bei 178—183°. Einmal gelang es, durch Umkrystallisieren den Schmelzpunkt bis auf 199—200° emporzutreiben; da bestand die Krystallmasse nur noch aus kugelförmigen Nadelaggregaten. Sowohl Form als Schmelzpunkt stimmten in diesem Falle also jetzt vollkommen mit denen des Lactosazons überein.

Offenbar war also das X-Osazon ein Gemisch von Lactosazon mit dem Osazon irgendeines anderen Zuckers. Es wurde an Isomaltose gedacht: daraufhin gerichtete Versuche bestätigten aber diese Voraussetzung nicht. Denn, während Isomaltose innerhalb weniger Minuten beim Kochen mit verdünnten Säuren in zwei Moleküle Glucose auseinanderfällt, hatte vorhergehendes 10 bis 30 Minuten fortgesetztes Kochen des Blutdekokts mit 2%iger Citronensäure oder 1%iger Salzsäure nie eine Änderung der Eigenschaften des daraus herzustellenden X-Osazons zur Folge (wie man eigentlich schon a priori erwarten konnte, weil bei der Herstellung des Dekokts schon ziemlich beträchtliche Säuremengen zur Verwendung kamen!).

Sodann hat Best aus dem Blutdekot die Kohlenhydrate als Benzoyl-ester gefällt, diese nach Reinigung verseift und mit Überschuss (9 Vol. 92%igem) Alkohol die Polysaccharide gefällt; aus der zurückgebliebenen alkoholischen Lösung liessen sich dann noch sowohl das Phenylglucosazon (F. 208°) als das X-Osazon (F. 186—188°) unverändert herstellen. Die von Polysacchariden befreite Kohlenhydratlösung wies eine schwächere Rechtsdrehung auf als mit ihrem als Glucose berechneten reduzierenden Vermögen übereinstimmte.

Zum Zweck, womöglich zu einer näheren Identifizierung der betreffenden Zucker zu gelangen, hat nun Best die Blutdekote sterilisiert, und dann Reinkulturen von drei spezifischen Heferassen einwirken lassen. Diese waren: *Torula monosa*, *Saccharomyces cerevisiae* (Unterhefe „Oranjeboom“)

und Lactosehefe II. Wir übernehmen hier seine Tabelle betreffs des Vergärungsvermögens dieser drei Hefearten:

Kohlenhydrat	Vergärbarkeit mit		
	<i>Torula monosa</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Lactosehefe
Glucose . . . . .	+	+	+
Fructose . . . . .	+	+	+
Mannose . . . . .	+	+	+
Galaktose . . . . .	—	+ (langsam)	+
Saccharose <sup>1</sup> . . . . .	—	+	+
Maltose . . . . .	—	+	—
Lactose . . . . .	—	—	+
Melibiose . . . . .	—	+	+
Raffinose <sup>1</sup> . . . . .	—	+	+
Isomaltose . . . . .	—	—	—
Pentosen . . . . .	—	—	—
Glykuronsäure . . . . .	—	—	—
Dextrine <sup>1</sup> . . . . .	—	—	—

Wurde nun das Blutdekot (vor der Enteiweissung mit Phosphorwolframsäure) mit diesen verschiedenen Heferassen vergoren und dann erst das Osazon hergestellt, so wäre nun festzustellen, ob dadurch die Eigenschaften des X-Osazons geändert waren, d. h. ob darin jetzt das Osazon von Lactose, Maltose oder Melibiose fehlte; Galaktose konnte ausser Betracht gelassen werden, weil ihr Osazon in warmem Wasser nahezu unlöslich ist. Durch Kontrollversuche wurde sichergestellt, dass die Hefe an sich keine störenden Substanzen an die umgebende Flüssigkeit abgab.

Das Ergebnis dieser Versuche war nun folgendes: Nach Vergärung mit *Torula monosa* wurde ein Produkt erhalten, das kein Glucosazon mehr enthielt, in Löslichkeit, Schmelzpunkt (186—188°), Krystallform und auch in Menge aber noch immer vollkommen mit dem X-Osazon übereinstimmte. Auch nach Vergärung mit *Saccharomyces cerevisiae* war das Ergebnis vollkommen identisch. Best schliesst daher, dass Rinder- oder Pferdeblut unter normalen Umständen keine Maltose oder Melibiose enthält.

Nach Vergärung mit Lactosehefe aber war die erhaltene Menge Osazon geringer: es war noch immer löslich in warmem Wasser, zeigte aber keine Krystallkugeln oder Rosetten mehr, sondern nur gesondert liegende oder höchstens sternförmig angeordnete Nadelchen, die in allen Fällen (Rinder-, Stieren- und Pferdeblut) bei 170° sinterten, bei 181—182° schmolzen.

Best hat sich nun gefragt, um welche Zuckerart es sich hier also handeln konnte; sie war, wie gesagt, gegen die drei Heferassen beständig und bildete

<sup>1</sup> Zuckerarten ohne freie Carbonylgruppe, die deshalb kein Reduktionsvermögen besitzen und kein Osazon bilden.

ein in warmem Wasser lösliches Phenylsazon vom Schmelzpunkt 181—182°. Sie konnte also nicht sein: Glucose, Fructose, Mannose, Galaktose, Saccharose, Maltose, Lactose, Melibiose oder Raffinose, weil diese alle vergoren wären; keine Isomaltose, weil der Schmelzpunkt des Osazons dazu viel zu hoch war; auch kein Dextrin oder Polysaccharid, da diese unter den gegebenen Umständen keine krystallinische Phenylhydrazinverbindung liefern und auch nach Entfernung der polymeren Kohlenhydrate aus dem Dekokt mittels 80%igem Alkohol das in Rede stehende Osazon noch daraus herstellbar ist. Schliesslich konnte auch Glykuronsäure ausgeschlossen werden, weil dessen Phenylhydrazinverbindungen in essigsaurer Lösung über 40° sehr unbeständig sind, das Erhitzen und wiederholte Umkrystallisieren aus heissem Wasser also voraussichtlich nicht mit solcher Gleichgültigkeit vertragen würden. Wegen des Schmelzpunktes usw. betrachtet Best die Substanz als am nächsten verwandt mit Melibiose oder dem Kohlenhydrat, das die Camidge-Reaktion gibt. Melibiose selbst kann es aber nicht sein, weil dieser Zucker sowohl mit *Saccharomyces cerevisiae* als mit Lactosehefe vergärt.

Best hat noch einige andere Eigenschaften der in Rede stehenden Substanz auffinden können, und fasst seinen Gesamteindruck dahin zusammen, dass es sich wahrscheinlich um eine den Disacchariden verwandte Substanz handle; aber keine Bihexose, sondern ein Zucker mit zwei (oder wenigstens einer) Pentosen- (oder Methylpentosen-)gruppen. Es sei aber gleich bemerkt, dass man dies alles mit noch mehr Zurückhaltung anzunehmen hat als der Autor dies schon tut, denn einige von seinen Feststellungen scheinen noch ziemlich unsicher. Und seine Meinung, dass die Substanz als solche frei im Blut kreise, erscheint, mit Hinsicht auf seine Herstellungsmethode, vollkommen unbewiesen.

Wir sahen schon, dass, wenn die auch Lactose vergärende Lactosehefe eingewirkt hatte, die schon vorher wegen ihrer charakteristischen Form als Lactosazon betrachteten Krystallkugeln verschwunden waren. Das bestärkte Best in der Meinung, dass Rinderblut Lactose enthalte. Aus der Differenz der quantitativen Reduktionsbestimmung nach Vergärung mit *Saccharomyces cerevisiae* und mit Lactosehefe errechnet er, dass dieser Lactosegehalt einen Teil des auf den „Blutzuckergehalt“ zurückgeführten Reduktionsvermögens gleich dem von 0,02—0,03 pro mille Glucose für seine Rechnung nehme. Da gegenüber der verwendeten Benedictschen Kupferlösung Lactose etwa drei Fünftel des Reduktionsvermögens der gleichen Gewichtsmenge Glucose entwickle, würde 100 ccm Rinderblut etwa 3—5 mg Lactose enthalten. Stierblut etwa 1—2 mg, Pferdeblut  $2\frac{1}{2}$ —5 mg.

### Fehlerquellen.

Einen bemerkenswerten Befund von Fontès und Thivolle (203a, 203b) wollen wir hier gleich hervorheben. Enteiweisst man Blut mit Mercuri-

nitrat und bestimmt dann das Reduktionsvermögen, so findet man meistens niedrigere Werte, als wenn man Wolframat verwendet hatte. Hydrolysiert man aber das mit Wolframat enteweißte Blutfiltrat während einer halben Stunde auf dem Wasserbade mit Säure und behandelt das Hydrolysat jetzt mit Mercurinitrat, so ist das Reduktionsvermögen dem des Wolframatfiltrats selbst vollkommen gleich. Mit anderen Worten: Blut enthält eine Substanz, die nach Hydrolyse ebenso stark reduziert wie zuvor (also nicht zur Hy-S gehört!), aber vor Hydrolyse wohl, danach aber nicht mehr von Mercurinitrat gefällt wird. Man findet also bei Bestimmung des freien Blutzuckers bei Verwendung der Quecksilberfällung einen um x pro mille zu niedrigen Wert, während dieselben x pro mille beim Gesamtzuckergehalt mitfigurieren. Zieht man also beide Werte voneinander ab, so sind in der so errechneten Hy-S auch noch x pro mille mit einbegriffen, die eigentlich zum „freien Zucker“ gehören, sicher wenigstens nicht von Eiweiss stammen.

Holmes, Holmes und Hopkins (266) haben darauf aufmerksam gemacht, dass die Reduktionszunahme durch saure Hydrolyse auch vorgetäuscht werden könnte vom Übergang eventuell vorhandenen Kreatins in Kreatinin, das stärker reduziert; nach Benedict (25a) sei dieser Übergang fast quantitativ, wenn man die Kreatinlösung 30' bei 117° mit n-HCl im Autoklaven erhitzt. Das ist also nahezu dieselbe Methodik als bei der französischen Methode der Hy-S-Bestimmung. Als zweites Moment könne dann noch hinzukommen, dass bei stärkerer Verdünnung das reduzierende Vermögen des Kreatins und im besondern des Kreatinins relativ grösser ist als das konzentrierter Lösungen.

Ein anderer Scheineffekt, wenigstens wenn man den Zuckergehalt durch Vergärung bestimmt, könnte auftreten, wenn es sich herausstellte, dass die von Pringsheim c. s. (446) beschriebene stabile  $\gamma$ -Glucose oder verwandte Produkte im lebenden Körper vorkämen. Denn dieser unvergärbare Zucker wird nach dem genannten Autor durch Erhitzen mit verdünnter Säure sehr leicht in die gewöhnliche vergärbare  $\alpha$ - $\beta$ -Glucose umgesetzt.

Weiter sind besonders in Hydrolysaten eine Anzahl Substanzen vorhanden, die bei der quantitativen Bestimmung des auf der Anwesenheit von Glucose beruhenden reduzierenden Vermögens Störungen verursachen können, grösser noch als mit ihrem eigenen reduzierenden Vermögen übereinstimmt. Dies hat im besondern Holden (265) studiert; er zeigte, dass einige Substanzen, z. B. Cystin, das Kupferoxydul verhindern niederzuschlagen; andere wieder machen es missfarben. Daneben sind dann noch bisweilen die Reduktionswerte höher oder niedriger als mit der Summe der Komponenten übereinstimmt.

Auch Pavy (433, S. 72) war früher schon auf ähnliche Tatsachen aufmerksam geworden. Er meinte, dass die Anwesenheit von freiem oder gebundenem Ammoniak oder von Substanzen, die diese beim Kochen entwickeln, die Hauptursache von Störungen sei: es halte das Kupferoxydul in Lösung

und verursache deshalb, wenn bei der verwendeten Technik das Oxydul abfiltriert und danach titriert werden muss, ein Manco. Das war unter anderem bei seinen eigenen Versuchen mit Leberhydrolysaten der Fall; bei Bluthydrolysaten sei der hierdurch verursachte Fehler seines Erachtens viel geringer.

Auch muss man immer die Möglichkeit im Auge behalten, dass aus dem anwesenden Zucker selbst stärker reduzierende Produkte entstehen bei der Hydrolyse. So fand z. B. Klein (289), dass beim Erhitzen von fast allen Kohlenhydraten, sowohl in alkalischen, neutralen als sauren Lösungen verschiedene Aldehyde in mehr oder weniger grosser Menge entstehen. Uns interessieren im besondern folgende:

Formaldehyd aus:	Glucose	+++
	Fructose	++
	Galaktose	++
	Maltose	+++
	Lactose	+++++
	Glykogen	+
	Dextrin	++++
	Glycerin	++++

Acetaldehyd aus anderen, für uns nicht wichtigen Stoffen.

Glyoxalmedon aus Glyoxal.

Acrolein aus Glycerin.

Man sieht: es besteht reichlich Möglichkeit, dass diese Substanzen in Hydrolysaten entstehen. Und, da sie zum grössten Teil flüchtig sind, können sie reichlich Gelegenheit geben zu Fehlern und ungleichmässigen Ergebnissen!

Schliesslich macht Handovsky (250) darauf aufmerksam, dass man, die freien SH-Gruppen mit Nitroprussidnatrium und Jod titrierend, in rohem Serumeiweiss nicht findet, wohl aber, sobald man es durch Erhitzen oder mit Alkohol koaguliert. Da nun die SH-Gruppe auch reduzierend wirkt, könnten ähnliche Prozesse auch bei der sauren Hydrolyse des Blutes stattfinden. Es sei hier auch auf das Plasmal (s. S. 171 usw.) verwiesen, das durch gleichartige, beim ersten Anblick vollkommen unschuldige, Eingriffe in Freiheit gesetzt wird.

Ausgehend von der Voraussetzung, dass die reduzierende Komponente der Hy-S tatsächlich eine Hexose sei — was, wie wir schon gesehen haben, noch keineswegs sicher ist — kann man sich diese an verschiedene Gruppen von Substanzen gebunden denken, die im lebenden Körper vorkommen. Als erste Möglichkeit nennen wir die

## VIII. Kondensation von Hexosen mit Eiweiss, „Eiweisszucker“.

Beim Studium der Tatsache, dass bei Hydrolyse von Blut mit Säure das reduzierende Vermögen zunimmt, hat man sich alsbald gefragt, an welche Kategorie von Substanzen der abgespaltene „Zucker“ vor der Abspaltung

gebunden gewesen sei. Bald kam man zur Vermutung, dies seien die Eiweiss-substanzen gewesen. Besonders Pavy hat die Idee propagiert, später auch Bierry und seine Schüler; Lépine (334) hat sich ihr, aus anscheinend nicht sehr überzeugenden Gründen, angeschlossen. Infolgedessen findet man in der Literatur fast überall, wo von einer Zunahme des Reduktionsvermögens durch saure Hydrolyse die Rede ist, für die man kein Glykogen verantwortlich machen kann, diese ohne weiteres auf die Anwesenheit von „Eiweisszucker“ zurückgeführt. Daran werden dann oft noch viel weitergehende Folgerungen ohne näheren Beweis angeknüpft, so dass z. B. vor kurzem Glassmann (230) kühn behauptete: „Zur normalen Verwertung des Blutzuckers in den Gewebszellen muss er an Eiweiss gebunden sein“.

Mit welchem Recht tut man dies alles?

Der Name „Sucre protéidique“ ist gegeben von Bierry (56) auf Grund der Tatsache, dass er aus Fibrinogen, Serumglobulin und Serumalbumin, in verschiedener Weise hergestellt, immer ein reduzierendes Hydrolyseprodukt erhielt, das er aus den soeben schon wiedergegebenen, mehr oder weniger hinreichenden Gründen als Glucose betrachtete. Es sei aber schon hier darauf hingewiesen, dass, wie wir sofort näher auseinander setzen werden, seine Weise der Isolierung und Reinigung der Eiweissfraktionen, ebensowenig wie die Art der Identifikation des Hydrolyseproduktes hohen Anforderungen genügten; von quantitativem Arbeiten war gar keine Rede. Und dies ist gerade das Schlimmste; hätten Bierry, Fandard c. s. sich einigermaßen Rechenschaft gegeben von den quantitativen Verhältnissen, wie diese schon aus den Arbeiten zahlreicher Vorgänger abzuleiten waren, so wäre die Bedeutung des „Eiweisszuckers“ niemals so übertrieben hoch veranschlagt worden, wie es nach ihrem Beispiel so oft geschehen ist. Deshalb werden wir uns zuerst mit diesem Punkt beschäftigen müssen.

An allererster Stelle müssen wir dann eine Übersicht geben über die im Blut vorhandenen Mengen der verschiedenen Eiweissfraktionen.

Nach Lewinski (349) enthält menschliches Blutserum etwa 6,32—8,26% Eiweiss, und zwar: Serumalbumin 3,33—5,40%, Serumglobulin 2,08—3,81%, Fibrinogen 0,27—0,48%.

Nach ihm stimmen 100 Teile Blut mit 65 Teilen Serum überein. Die Menge Serumglobulin gleich 1 stellend, beträgt die Menge Serumalbumin beim Kaninchen 2,50, Menschen 1,51, Hunde 1,50, Schweine 1,49, Rinde 0,85, Pferde 0,58.

Beim Hungern soll das Albumin ab-, das (Para-)Globulin hingegen zunehmen.

In einer neueren Übersicht teilt Geill (224) gleichfalls entsprechende Daten mit. Nach ihm enthält Menschenserum 6—10% Eiweiss, Pferde-, Rinder-, Schweine-, Schafs- und Hundeserum 6—8%, Vogelseserum 4—5% usw. Bei Infektionskrankheiten soll in der Regel die Globulinfraktion zunehmen;

bei malignen Tumoren soll neben einer Zunahme der Globuline eine Abnahme des Gesamteiweissgehalts stehen. Bei Nierenkrankheiten soll das Serum-eiweiss gleichfalls sinken auf Kosten des Albumins, während das Globulin nahezu unverändert bleiben soll; bei Nephrosklerose aber soll von den genannten Veränderungen wenig zu bemerken sein. Man vergleiche dies alles mit dem in einem der letzten Kapiteln Mitgeteilten betreffs der Schwankungen des Hy-S-Gehalts bei denselben Krankheitszuständen.

Welche von den genannten Eiweissfraktionen trägt nun die Hy-S? Um darauf eine Antwort zu finden, müssen wir eine Übersicht geben von allen den Untersuchungen, die sich mit diesen Fraktionen beschäftigen.

### 1. Serumalbumin.

Saure Hydrolyse von Serumalbumin ist von verschiedenen Forschern ausgeführt worden; die Ausbeute an reduzierender Substanz war wechselnd, aber immer niedrig. Einige Autoren sahen sogar überhaupt keine Zunahme; so z. B. Mörner (400, Pferdeserumalbumin), Eichholz (171, Rind), Abderhalden (1), Bufano (Handelspräparat von Kahlbaum unbekannter Vorgeschichte). Krawkow (297) und Langstein (306) erhielten nur Spuren. Nach kräftiger Vorbehandlung mit Alkali war beim letztgenannten Autor die Ausbeute etwas grösser. Beiden Forschern gelang es, ein Osazon herzustellen; bei K. schmolz dies bei 183—185°, das Osazon Langsteins hingegen bei 196—200°; mit Hilfe des Benzoylestere konnte der letztgenannte Autor seine Substanz als Chitosamin identifizieren (303). Daneben fand er noch Spuren eines anderen Kohlenhydrates, das sich sehr empfindlich gegen Säuren zeigte und kein Osazon lieferte.

Zum Schluss erwähnen wir, dass auch Bierry c. s. (56, 453 S. 181) behaupten, aus Serumalbumin reduzierende Zucker dargestellt zu haben; die quantitativen Verhältnisse erwähnen sie aber nicht, und ausserdem muss man aus ihrer Beschreibung der Herstellung schliessen, dass sie den Grundstoff unvollständig gereinigt haben; so haben sie z. B. das einmal niedergeschlagene Albumin zwar mit verschiedenen Lösungsmitteln gewaschen, aber es wurde nicht einmal wieder aufgelöst und zum zweiten Male gefällt oder gründlich extrahiert.

Pavy gibt wohl Zahlen an, und zwar soll der Kohlenhydratgehalt nicht weniger als 18—20 pro mille der Trockensubstanz betragen (434, S. 45), aber für seine Versuche gelten dieselben Bedenken. Ausserdem war seine Methode der Enteiweissung mittels Phosphorwolframsäure für diese Fälle vollkommen unzureichend, da hierbei nach unserer eigenen Erfahrung noch eine grosse Menge von reduzierenden Eiweissabbauprodukten in das Filtrat gelangt und als „Zucker“ mitfiguriert.

Zusammenfassend glauben wir sagen zu können, dass höchstwahrscheinlich das Serumalbumin bei Hydrolyse mit Säure

kein reduzierendes Kohlenhydrat liefert und dass die geringen Mengen, die man bisweilen gefunden hat, von Verunreinigungen abstammten. Der Anteil des Serumalbumins an der oft sehr beträchtlichen Zunahme des Reduktionsvermögens, die nach saurer Hydrolyse des Blutes auftritt, muss jedenfalls sehr gering sein.

Unter einem Vorbehalt: Es wäre möglich, dass sich mit der Zeit herausstellen würde, dass die neuen wichtigen Versuchsergebnisse, von Fraenkel und Jellinek (208) an Eialbumin erhalten, auf die übrigen Albumine des tierischen und menschlichen Körpers übertragen werden dürfen. Die genannten Autoren haben sich von der Molisch-Reaktion leiten lassen; es gelang ihnen so (sogar nach zwei Methoden), die Substanz, die diese Reaktion verursacht, zu isolieren, unter Vermeidung jeglicher Hydrolyse mit Säure; wohl wurde mit Baryt gekocht. Die in dieser Weise erhaltene Substanz reduzierte nicht und war optisch inaktiv; bei Hydrolyse mit Säure wurde sie in reduzierende Komponenten gespalten. Eine von diesen wurde als Mannose identifiziert (unlösliches Hydrazon, dessen farblose Krystalle schmolzen bei  $198^{\circ}$  und einen N-Gehalt von 10,64% aufwiesen gegen 10,37% berechnet). Daneben war aus der vom Hydrazon abfiltrierten Flüssigkeit nach Erhitzen Glucosazon (Sm. 204<sup>o</sup>) zu erhalten, welches, da auch Glucosamin-(Chitosamin-)chlorhydrat identifiziert werden konnte, von Chitosamin abstammen müsste. Somit war die Natur der ungespaltenen Substanz als Chitosamino-(Glucosamino-)mannose oder als Polymeres hiervon erwiesen, und es stellte sich heraus, dass die Amino-Gruppe in der Verbindung nicht frei, sondern mit der Mannose verbunden ist.

Es ist von grösster Bedeutung für die Lösung des uns beschäftigenden Problemes, dass diese Untersuchung möglichst bald an den gereinigten Eiweissstoffen des Blutes und der Organe wiederholt werde<sup>1</sup>.

Jedenfalls ist es höchst interessant, dass die Mannose, die bisher nur in Pflanzen aufgefunden war, jetzt auch im Tierreich angetroffen ist.

## 2. Serumglobulin.

Viel zahlreicher als die Untersuchungen des Albumins sind die, welche das Serumglobulin zum Gegenstand hatten. Krawkow (297) hat, aus dem Globulin nach Hydrolyse mit Säure nur Spuren eines Osazons erhalten, so wenig, dass es ihm nicht möglich war, den Schmelzpunkt zu bestimmen.

Alle übrigen Autoren erhielten eine grössere Ausbeute an reduzierender Substanz. So konnte schon Mörner (400), trotz seiner ziemlich groben Methodik, ein positives Ergebnis verzeichnen, und zwar sowohl an Pferde- als an Menschenblutglobulin.

---

<sup>1</sup> Anm. b. d. Korrektur: Dies ist inzwischen schon teilweise geschehen. Dische (Biochem. Zschr. 201, 74, 1928) hat in einer schönen Untersuchung die Anwesenheit von d-Mannose in Pferdeplasmahydrolysaten zeigen können!

Auch Bierry c. s. (56, 453 S. 181) geben an, aus Blutglobulin reduzierende Substanz abgespalten zu haben. Sie geben aber keine Zahlen, und ebensowenig eine genauere Identifikation der erhaltenen reduzierenden Substanz. Ausserdem gelten für ihre Art der Darstellung und Reinigung dieselben Bedenken, wie schon beim Albumin erwähnt.

Leider halten auch Pavys Versuche der Kritik nicht stand. Er hat trockenes Blutglobulin noch zweimal aufgelöst und wieder gefällt; danach enthielt die Substanz noch 28—30 pro mille „Glucose“ (434, S. 45). Auch hier aber darf man die Reinigung nicht als genügend betrachten, und ausserdem hat er wiederum das für Hydrolysate als ungenügend zu betrachtende Phosphorwolframatverfahren benutzt.

Eichholz (171) stellte aus seinen Hydrolysaten ein Osazon dar, das nach vielen Reinigungen einen Schmelzpunkt von  $212^{\circ}$  aufwies, „clearly indicative of a phenylglucosazone“. Doch betrachtete er selbst dieses Ergebnis mit einem gewissen Misstrauen und dachte an eine Verunreinigung seines Globulins mit Mucoid.

Abderhalden c. s. (1) verarbeiteten ein Handelspräparat. Ihr Hydrolysat zeigte eine deutliche Vergärbarkeit und drehte polarisiertes Licht schwach nach rechts. Sie konnten zwei Osazone daraus herstellen: eines, das in heissem Wasser unlöslich war und nach Umkrystallisieren aus verdünntem Alkohol bei  $203\text{—}204^{\circ}$  schmolz, also wahrscheinlich Glucosazon war und wirklich auch nach Vermischen mit chemisch reinem Phenylglucosazon keine Schmelzpunktserniedrigung zeigte; ausserdem stimmte die chemische Zusammensetzung damit befriedigend überein (C 60,77%, H 6,22%, gegen C 60,33%, H 6,14% berechnet).

Das zweite Osazon war löslich in heissem Wasser und schmolz nach Umkrystallisieren aus verdünntem Alkohol bei  $203^{\circ}$ . Die Analyse ergab: C 60,82%, H 6,19%.

Die gesamte Menge in Freiheit gesetzter reduzierender Substanz, berechnet als Glucose, betrug etwa 0,1% des Trockengewichts des Serumglobulins; übrigens wechselte der Gehalt der verschiedenen Präparate so stark, dass die Autoren selbst nicht als erwiesen achteten, dass Kohlenhydrate primäre Spaltungsprodukte des Serumglobulins seien. Dass die Kohlenhydratgruppe am Aufbau des Eiweissmoleküls teilnimmt, betrachten sie als am wenigsten erwiesen.

Langstein (308) hydrolysierte Pferdeserumglobulin und erhielt aus dem Hydrolysat Osazone, von denen er eines mit Sicherheit als Glucosazon identifizieren zu können glaubte. Demgegenüber meinte er bestimmt sagen zu können, dass sowohl Glucosamin als Galaktose abwesend waren, denn bei Oxydation wurden keine Norisozuckersäure und keine Schleimsäure, wohl aber wahrscheinlich Zuckersäure erhalten. Mit Sicherheit festgestellt wurde auch die Anwesenheit von Fructose und von einer Aminohexose mit Eigen-

schaften, die in wichtigen Punkten von denen des Glucosamins (Chitosamins) abweichen; daneben schienen noch eine linksdrehende Aldose und Kohlenhydratsäuren unbekannter Konstitution am Aufbau des Globulins teilzunehmen. Ob die Fructose primäres Spaltungsprodukt des Globulins war, bezweifelte er damals schon. Die Gesamtmenge Kohlenhydrat schätzte er auf Grund des reduzierenden Vermögens, als Glucose berechnet, auf 1,3—2,0% des Globulins (304); gegenüber dieser niedrigen Ziffer wunderten ihn die grossen Mengen Benzoyl ester, die er erhielt. Er sucht die Erklärung im Vorkommen von noch unbekanntem Kohlenhydraten, mit niedrigem reduzierenden Vermögen.

In späteren Untersuchungen hat Langstein diese Daten noch vervollständigt (307, 310, 311). Ausser den in seinen vorigen Untersuchungen verwendeten Reinigungen hat er nun das Globulin noch mit Diastase und Hefe vorbehandelt. Aber auch dann noch war nach der Hydrolyse mit Säure im Hydrolysat immer noch die Anwesenheit von Glucose zu erkennen. Von der Fructose konnte er jetzt mit Sicherheit zeigen, dass diese erst sekundär, als Kunstprodukt, entstand. Aber besondere Aufmerksamkeit verdient die Tatsache, dass nun seine Schätzung des Gesamtkohlenhydratgehaltes des Globulins schon gesunken ist bis zu 1% der Trockensubstanz, wovon etwa ein Drittel auf Rechnung von Glucose und der Rest auf die noch unbekanntem Kohlenhydrate kommen sollte. Unter diesen hat er nun Glucosamin mit Sicherheit identifizieren können. Die linksdrehende Aldose kommt nach seiner Erfahrung konstant unter den reduzierenden Spaltungsprodukten vor. Sie reagierte nicht mit Methylphenylhydrazin und gab ein schlecht krystallisierendes Osazon vom Schmelzpunkt 184—186° (304). Man könne sie folgendermassen in die Hände bekommen: Das Produkt der Hydrolyse mit verdünnter Salzsäure wird benzoyliert, dann wird der alkohollösliche Teil der Benzoyl ester verseift und nachher vergoren. Dabei bleibt sie unvergoren in der Flüssigkeit zurück, die man durch Behandeln mit Kieselgur und Filtration leicht von der Hefe befreien kann. Die erhaltene Menge des unbekanntem Zuckers wechselt, ist aber immer klein (weniger als 1%).

Nach Jahren hat derselbe Autor die Sache nochmals mit noch weiter verfeinerter Technik (305) aufgenommen. In einem Pferdeserumglobulinpräparat, das zur Reinigung unter anderem mit einer sehr schwachen Essigsäurelösung ausgekocht worden war, wurde nach Hydrolyse mit verdünnter Mineralsäure ein reduzierendes Vermögen gefunden, das nur mit 0,46 bzw. 0,43 und 0,60% „Glucose“ übereinstimmte, auf das trockene Globulin berechnet. Man sieht: seit seiner vorigen Untersuchung sind die Werte wieder auf die Hälfte reduziert! Auch nach sehr gründlicher Reinigung lieferte das Globulin also doch noch etwas reduzierende Substanz. Ob dies nun aber, wie Langstein meint, beweist, dass diese tatsächlich vom Globulin herstamme, wagen wir zu bezweifeln. Nicht dass beigemischte Glucose oder andere freie reduzierende Substanzen die Schuldigen seien, aber wer garantiert, dass

Nucleoproteide, Mucoproteide u. dgl. quantitativ aus dem Globulin entfernt waren? Schon Eichholz klagt darüber (l. c.), dass das Mucoïd so äusserst schwierig zu entfernen sei, und dass ausserdem jedes Mittel fehle, den Stand der Reinigung einigermaßen genau zu kontrollieren. Das gilt gewiss auch jetzt noch; über die Möglichkeit, derartige Gemische von Eiweiss-substanzen zu trennen, wird meistens zu leichtfertig geurteilt. Ein neueres Beispiel davon ist die Geschichte der Insulinreinigung; auch das Insulin befindet sich in der Globulinfraction, diesmal von Pankreasextrakten; Hunderte von Forschern sind schon seit einigen Jahren mit der Reindarstellung beschäftigt, und noch ist diese wahrscheinlich nicht gelungen.

Zum Schluss erwähnen wir noch, dass das in Langsteins letzten Versuchen erhaltene reduzierende Produkt immer deutlich vergor (wenigstens zum Teil), optisch eine Spur nach links drehte und erst nach langem Stehen mit dem Reagens eine schwach positive Seliwanoff-Reaktion zeigte.

Condorelli (125, 126) glaubt auch jetzt noch, dass die Hy-S zum weit-aus grössten Teil an die Globuline des Blutserums gebunden sei. Erstens hat er die Globuline in der üblichen Weise durch Halbsättigung mit Ammonsulfat ausgesalzen. Hydrolysierte er dann sowohl das Filtrat als das wieder in Wasser aufgelöste Präcipitat, so zeigte ersteres keine Zunahme des reduzierenden Vermögens mehr, während die Vermehrung beim Globulin genau mit der Zunahme, am in toto hydrolysierten Blute ermittelt, übereinstimmte. Diese Übereinstimmung ist darum äusserst auffallend, weil das Ammonsulfat, das den Reduktionsprozess bekanntlich stark stört, hier, bei der von diesem Autor befolgten Methodik, nicht den geringsten nachteiligen Einfluss gehabt haben sollte. Besonders der negative Befund am globulinfreien Filtrat, das noch nahezu alles Ammonsulfat enthält, scheint wenig beweisend. Und auch das Globulin selbst enthält ohne Reinigung noch so viel von diesem Salz, dass dies die Ergebnisse ohne Zweifel beeinträchtigt. Wie dann die gute Übereinstimmung zustande kommt, ob sie auf Wirklichkeit oder auf einem noch nicht erkannten Scheineffekt beruht, muss zur Zeit unentschieden bleiben.

Eins steht aber doch wohl fest: der in dieser Weise ausgesalzene Globulin-niederschlag enthält tatsächlich den grössten Teil der Hy-S. Ob chemisch gebunden oder nur adsorbiert oder sogar einfach mitgerissen, bleibt vorläufig unentschieden.

Auch hinsichtlich der chemischen Natur der durch Hydrolyse mit Säure in Freiheit gesetzten reduzierenden Substanz hat Condorelli einige Untersuchungen angestellt, die wir hier wegen ihrer prinzipiellen Bedeutung in extenso wiedergeben wollen (126):

2 l Rinderblut werden vermisch mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung, und das Gemisch einige Stunden an einem kühlen Ort belassen. Sodann wird der Globulin-niederschlag abfiltriert, und am nächsten Tage nach Wägung mit dem gleichen Gewicht 4%iger Salzsäure versetzt. Man hydrolysiert während 10 Minuten bei 1 Atmosphäre Überdruck und setzt nachher ebensoviel Kubikzentimeter 5%iger Sublimatlösung zu als vorher HCl verwendet

worden war. Wieder stellt man das Gemisch 24 Stunden beiseite, filtriert dann ab und entfernt das Quecksilber mit  $H_2S$ . Dem Filtrat setzt man  $Ba(OH)_2$  in Substanz zu unter dauerndem Rühren, bis die Reaktion alkalisch ist (!). Das entstandene  $BaSO_4$  filtriert man ab und engt das Filtrat in vacuo bei  $45^\circ$  ein, bis sich eine krystallinische Masse, fast ausschliesslich aus Ammonsulfat bestehend, absetzt. Die obenstehende Flüssigkeit wird abgegossen, und man wäscht die Krystalle mit einem Gemisch von 4 Teilen Methylalkohol und 1 Teil Wasser. Man vereinigt die Flüssigkeiten, und fällt aus dem Gemisch die Chloride und Sulfate dadurch, dass man so lange eine 25%ige Bleiacetatlösung zusetzt, bis in einer filtrierten Probe weiterer Zusatz dieses Reagens keine Trübung mehr zur Folge hat. Nach Filtrieren fällt man dann das Blei mit  $H_2S$ , filtriert wiederum ab und setzt dem Filtrat so lange 20%iges  $NaOH$  zu, bis die Reaktion deutlich alkalisch ist (!): dann schlagen die Ca- und Mg-Salze nieder. Nochmals wird filtriert, man säuert das Filtrat mit Eisessig an und engt in vacuo ein bei  $45^\circ$ , bis sich Natriumacetat in Form von Krystallen absetzt. Auch diesmal wieder giesst man die Flüssigkeit ab, wäscht die Krystalle mit demselben Gemisch von Methylalkohol und Wasser, vereinigt die Flüssigkeiten und engt weiter in vacuo ein bis zu einem Volumen von 40—60 ccm. Aus dieser Flüssigkeit, die Fehlingsche Lösung stark reduziert, konnte nun Condorelli gleichfalls Osazone herstellen. Schon in der Wärme schied sich krystallinisches goldgelbes Osazon ab. Condorelli liess nun das Ganze 8—12 Stunden in der Kälte stehen, filtrierte dann die Krystalle ab und spülte sie wiederholt mit kaltem destilliertem Wasser; danach wurde das Osazon in Alkohol von  $95^\circ$  gelöst und dann durch Zusatz von destilliertem Wasser wieder niedergeschlagen. Die in dieser Weise erhaltenen Krystalle waren goldgelb, nadelförmig und in Garben, Bündel oder Rosetten geordnet; sie schmolzen bei  $195$ — $199^\circ$ . Aus diesen Gründen meint er, dass es die Osazone von Glucose oder Maltose sein sollen. Da die optische Rotation des erhaltenen Osazons, in Alkohol-Pyridin gelöst, ebenso gross war wie von der gleichen Menge Glucosazon und gleichfalls nach links gerichtet, während Maltosazon ebenso stark nach rechts drehen würde, so glaubt er, hiermit bewiesen zu haben, dass bei der Hydrolyse der Blutglobuline Glucose in Freiheit gesetzt wird.

Was hat man nun von Alledem zu denken?

Erstens versäumt Condorelli zu beweisen, dass der vom Ammonsulfat gebildete Niederschlag tatsächlich ausschliesslich aus Globulin besteht, und dass nicht, wie so oft, auch andere Substanzen mitgefällt werden, die mit Hilfe von irgendeinem physikalischen Agens wieder vom übrigen Niederschlag getrennt werden können. (Man denke z. B. an Shaffers Insulinbereitungsmethode!) Er hat den Globulinniederschlag in keiner Weise gereinigt! Dann, als zweiter wichtiger Punkt, hat er das zuckerhaltige Hydrolysat sogar zweimal deutlich alkalisch gemacht, eine Massnahme also, die ausserordentlich unzweckmässig ist, um den genuinen Zucker in Händen zu bekommen, und bei der z. B. auch aus Glycerinaldehyd Kondensationsprodukte entstehen, die mit Phenylhydrazin Phenylglycosazon, d. h. ein Gemisch von d- und l-Phenylglucosazon liefern (23). Drittens hat er die Osazonmasse statt mit heissem, mit kaltem Wasser gewaschen, und hat damit eine schöne Gelegenheit, das „Glucosazon“ auf eine seiner meist charakteristischen Eigenschaften zu prüfen, unbenützt gelassen. Viertens ist es zwar, nach vielen Reinigungen, gelungen, den Schmelzpunkt des Osazons von  $195$  auf  $199^\circ$  zu erhöhen, aber dieser ist noch so weit vom erforderlichen Schmelzpunkt von  $205^\circ$  entfernt, dass es zweifelhaft erscheint, ob dies je hätte erreicht werden können. Als fünften Punkt muss man folgendes nennen: der Autor sagt wohl, dass die optische Rotation gut mit der des Glucosazons übereinstimmte, aber er erwähnt mit keinem Wort die auch hier so stark zutage tretenden Mutarotationserscheinungen. Und schliesslich: wie man nach der Hydrolyse mit Säure noch, wie es Condorelli tut, an Vorhandensein von Maltosazon denken mag, ist ein Rätsel.

Man sieht: auch diese Arbeiten haben einige interessante und wichtige Tatsachen zutage gefördert, aber den Beweis haben sie ebensowenig geliefert als die Forschungen aller Vorgänger. Der von Condorelli für die Hy-S vorgeschlagene Name „Glykoglobulin“ ist deshalb zum wenigsten verfrüht. Man müsste fordern, dass die Glykoglobulinverbindung isoliert würde und so ihre Existenz erwiesen. Bufano (98) ist der Meinung, dass dies ein hoff-

nungsloses Unternehmen sei, denn seines Erachtens sei die Bindung so schwach, dass jeder Versuch zur Isolation unvermeidlich zur Abspaltung des Zuckers führen würde. Auch Condorelli selbst ist nicht optimistisch, aus anderen Gründen: er meint, wir wissen noch zu wenig von der Struktur des Eiweissmoleküls. Dass nicht einfach eine Adsorption des Zuckers an Globulin in Frage komme, glaubt er dadurch erweisen zu können, dass der Globulinniederschlag, wieder in Wasser gelöst, daran keine Spur freier reduzierender Substanz abgibt, und zweitens dadurch, dass ein Globulinniederschlag, in glucosehaltiger physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst, daraus keine Spur Glucose adsorbiert (126).

Wir glauben, auf Grund von alledem, das im Obenstehenden referiert und kritisiert worden ist, sagen zu dürfen, dass auch die geringe Menge reduzierender Substanz, die noch in den bestgereinigten Globulinpräparaten bisher immer wieder gefunden wurde, letzten Endes doch vielleicht von einer Verunreinigung abstamme, und dass man, um die Frage endgültig zu entscheiden, noch schärfere Methoden wird ausarbeiten müssen. Jedenfalls ist unbewiesen, dass die gesamte Hy-S einfach „Glykoglobulin“ und nichts anderes sei.

### 3. Fibrinogen, Fibrin.

Bierry c. s. (56) stellten aus Blut Fibrinogen her und sagen, sie haben daraus durch Hydrolyse mit Säure Zucker erhalten: Zahlen geben sie aber nicht an.

Krawkow (297) hydrolysierte sorgfältig ausgewaschenes Fibrin und erhielt eine sehr geringe Menge von Osazonkrystallen, die bei 182—184° schmolzen. Pavy (434, S. 46) glaubte in (nach unseren heutigen Begriffen unvollständig gereinigtem) Pferdeblutfibrin 23—25 pro mille Glucose zu finden; unsere soeben aufgeführten Bedenken gegen seine Methodik gelten aber auch hier, seine Werte sind sicher viel zu hoch. Keine von den oben genannten alten Untersuchungen genügt den heute an solche zu stellenden Anforderungen. Aber sogar wenn das reduzierende Produkt nicht, wie zu erwarten wäre, von Verunreinigungen abstammte, ist der Gehalt des Blutes an Fibrinogen doch schon soviel geringer als der an Albumin und Globulin, dass der absolute Wert durchaus zu vernachlässigen sein muss.

### 4. Mucoïd.

Schliesslich hat Bywaters (102, 103) den Gehalt des normalen Blutes an Serummucoïd bestimmt. In Pferdeblut besteht nach ihm beim hungernen Tiere weniger als  $\frac{1}{2}\%$  des Gesamt-Eiweissgehalts daraus, nach einer kohlenhydratreichen Mahlzeit hingegen mehr als 1%. Ebenso nimmt beim Hunde durch eine kohlenhydratreiche Mahlzeit der Gehalt zu von etwa 0,3 g bis auf etwa 0,9 g pro Liter Blut. Das Serummucoïd würde etwa 10% der gesamten Menge „Kohlenhydrat“ im Blut ausmachen (in Form von Glykuronsäure

und Hexosamin). Es soll eine positive Glyoxylsäurereaktion nach Adamkiewicz zeigen, und eine fast negative Schwefelbleiprobe. Bei saurer Hydrolyse werden die genannten reduzierenden Substanzen in Freiheit gesetzt.

Auch Zanetti (544) hat unter den Spaltungsprodukten von Serummucoïd mit HCl Glucosamin (Chitosamin) als Benzoat identifizieren können.

Eichholz (171) stellte aus dem Mucoïdhydrolysat eine reichliche Menge Osazonkrystalle vom Schmelzpunkt 204° dar.

### 5. Peptone.

Als Modell für die auch im Blute spurenweise vorkommenden Peptone hat Condorelli (135) Wittepepton hydrolysiert. Eine 20%ige Lösung davon spaltete tatsächlich etwas reduzierende Substanz ab. Es erscheint aber zweifelhaft, ob dieser Befund für die Bluthydrolyse irgendwelche Bedeutung hat.

Wenn wir nun, auf Grund der mitgeteilten Daten, eine ganz oberflächliche Berechnung machen von den Reduktionswerten, die man auf die bekannten Eiweisskörper des Blutes zurückführen kann, so bekommt man etwa folgendes:

3,33—5,40%	Albumin mit 0% „Zucker“	. . . . .	0,0	pro mille
2,08—3,81%	Globulin mit etwa 0,1%	. . . . .	0,04	„ „
0,27—0,48%	Fibrinogen, Spur Zucker	. . . . .	0,0	„ „
0,1	% Mucoïd	. . . . .	0,20	„ „
			Insgesamt	0,24 pro mille.

Übrigens kommt in einer neueren Mitteilung auch Bierry (39b) jetzt zum Schluss, dass das Globulin mehr Hy-S enthält als das Albumin, während im Fibrinogen nur Spuren zugegen seien. Dabei hat er aber die verschiedenen Fraktionen noch immer ungenügend gereinigt, und offenbar die Hy-S-Mengen nur schätzungsweise bestimmt.

Behält man beim Obenstehenden im Auge, dass der für das Globulin angegebene Wert (basiert auf dem von Abderhalden mitgeteilten) wahrscheinlich noch zu hoch ist, dass weiter das Mucoïd, das den Löwenanteil auf seine Rechnung bekommt, keine Glucose, sondern nur Chitosamin und Glykuronsäure liefert, von denen das Erste beim Enteiweissen mit Merkurinitrat höchstwahrscheinlich mitgefällt wird und das Zweite bei Hydrolyse (mit Schwefelsäure wenigstens) zum grössten Teil, wenn nicht ganz, zerstört wird, und vergleicht man das Endergebnis unserer Berechnung mit dem der wirklichen Bluthydrolysen, nach denen trotz Schwefelsäure und Mercurinitrat doch Steigerungen des reduzierenden Vermögens um 1,0 pro mille und mehr vorkommen, so wird man wohl zum Schluss kommen müssen, dass die Eiweisse des Serums dabei kaum eine Rolle spielen.

Es bleiben dann noch zwei Möglichkeiten offen: entweder war der bei Hydrolyse von Gesamtblut abgespaltene reduzierende

Stoff zuvor gebunden am Eiweiss der Blutkörperchen oder er stammt von ganz anderen, nichteiweissartigen Substanzen.

Die Tatsache, dass, wie gesagt, die Eiweiss-Zuckerverbindungen, wenn sie überhaupt bestehen, jedenfalls eine sehr untergeordnete Rolle spielen, enthebt uns zugleich von der Verpflichtung, näher auf die vielen Spekulationen einzugehen, die man im Laufe der Zeit hinsichtlich der Art der Bindung zwischen Zucker einerseits und Eiweiss oder Eiweissderivate andererseits geäussert hat. Es genüge der Hinweis, dass Pavy (433) immer ihre glucosidische Natur verteidigt hat, dass andere das Zuckermolekül noch inniger im Gebäude des Eiweissmoleküls enthalten dachten, während wiederum dritte Autoren, wie wir schon sahen (S. 24), im Gegenteil eine sehr wenig feste Bindung, wie die des Krystallwassers in Salzen, oder sogar eine einfache Adsorption vermuteten (309).

Es erübrigt sich auch, auf die Argumente von Bierry c. s. näher einzugehen. Seine Behauptung, dass Hydrolyse von enteweisstem Blut nichts liefert, ist, wie wir schon gesehen haben (S. 39), nicht erwiesen, und in ihrer Allgemeinheit sicher unrichtig. Gibt es doch kein einziges Eiweissfällungsmittel, das nicht neben dem Eiweiss auch andere Substanzen mitreißt, besonders wenn dies Kolloide sind; in welchem Ausmass dies geschieht, ist von Reagens zu Reagens verschieden. Dass bei Verwendung eines bestimmten Reagens die Muttersubstanz des reduzierenden Produktes (mit) niederschlägt, beweist also nichts hinsichtlich ihrer Eiweissnatur. Bierrys Behauptung steht auch nicht mit den Tatsachen in Übereinstimmung. Ein alkoholischer Blutextrakt z. B. enthält sicher noch oft grosse Mengen Hy-S, obwohl der bei weitem grösste Teil des Eiweiss koaguliert zurückbleibt; mit der von Pavy angegebenen Technik ist dies, wie wir aus eigener Erfahrung bestätigen können, leicht zu demonstrieren. Oben haben wir das schon ausführlich besprochen.

Ein weiteres Argument gegen die Auffassung, dass der Zucker einen Teil des Eiweissmoleküls ausmache, bildet auch die Tatsache, dass die Änderungen des Hy-S-Gehalts des Plasma vollkommen unabhängig sind von denen des Plasmaeiweiss. Darauf hat Bordet (84) aufmerksam gemacht. Die von

Bierry c. s. behauptete Konstanz des Quotienten  $\frac{\text{Eiweiss-N}}{\text{„Eiweisszucker“}}$  gilt nach

Bordet wenigstens für pathologische Fälle sicher nicht.

Es ist nur ein Schluss möglich:

Der Name „Eiweisszucker“ setzt bis jetzt unbewiesene Tatsachen als bewiesen voraus; ausserdem kann man schon jetzt sagen, dass er in gewissen Beziehungen sicher unrichtig ist. Deshalb muss er möglichst bald aus der Literatur verschwinden.

## 6. Kondensation von Zuckern mit Eiweissderivaten.

Obwohl also, wie wir auf den vorangehenden Seiten gesehen haben, es nicht wahrscheinlich ist, dass die wichtigsten Eiweisssubstanzen des Blutes einen nennenswerten Anteil von den bei saurer Hydrolyse in Freiheit gesetzten reduzierenden Stoffen liefern, so wollen wir doch einige Versuche referieren, die eine Bindung von Zuckern an Eiweiss, oder wenigstens an Eiweissderivate, wahrscheinlich gemacht haben.

Die erste derartige Substanz, die man in dieser Hinsicht nennen kann, war die von Schoorl synthetisierte Verbindung von Glucose und Harnstoff, Glucosecarbamid, die bei saurer Hydrolyse wieder Glucose abspaltet. Sie ist linksdrehend, vergärt nicht, reduziert nicht vor, wohl nach Hydrolyse, und gibt erst allmählich, je nachdem die Hydrolyse fortschreitet, ein Osazon.

Mayer (386) hat sich gefragt, ob diese Substanz vielleicht auch für eine physiologische Rolle in Betracht komme. Es hat sich herausgestellt, dass Kaninchen von einer ihnen verabreichten Dosis nur einen kleinen Teil wieder ausscheiden, während der weitaus grösste Teil anscheinend vom Körper in irgendeiner Weise verbraucht wird. Auch Kaninchenleberbrei zeigte sich imstande, einen grösseren oder geringeren Teil davon abzubauen. Seines Erachtens ist es deshalb keineswegs ausgeschlossen, dass die Substanz auch im Tierkörper vorkommt. Schoorl hat ähnliche Harnstoffverbindungen ausser mit Glucose, auch mit Galaktose, Mannose, Pentosen und den reduzierenden Disacchariden Maltose und Lactose herstellen können.

Vor kurzem hat Hynd (273) sich nochmals mit denselben Verbindungen beschäftigt, und zwar mit denen des Harnstoffs mit Glucose, Fructose und Mannose. Setzte er einer alkoholischen oder wässrigen Glucoselösung Harnstoff zu, so wurde die optische Rotation erniedrigt, während das reduzierende Vermögen unverändert blieb; bakterielle Zersetzungen konnte er ausschliessen, und auch Ureidbildung schien ihm unwahrscheinlich. Gleichzeitig mit der Abnahme der optischen Rotation stieg das  $p_H$  der Lösung an, und zugleich trat eine positive Seliwanoff-Reaktion auf.

Pringsheim und Winter (447) meinten, dass Eiweissstoffe und reduzierende Zuckerarten, sobald ihre Lösungen zusammengefügt werden, zu einer Verbindung kondensieren, weil dann der Zucker insofern nicht mehr mit der Fehlingschen Lösung nachweisbar ist, als keine charakteristische Abscheidung von Kupferoxydul mehr auftritt. Diese Meinung gründet sich aber auf unrichtige Kontrollversuche; nach unserer eigenen Erfahrung mit Hydrolysaten wird in solchen Fällen richtiges Oxydul gebildet, dies setzt sich aber oft nicht in der bekannten orangefarbenen Form ab. Es ist aber vorhanden, offenbar in kolloidaler Suspension, denn es gibt z. B. mit dem Folinischen Molybdänreagens die übliche intensive Farbe, proportional der zugesetzten Zuckermenge. Dass in Pringsheims Versuchen extra-hinzugegebenes Kupferoxydul aus einer Eiweisslösung wieder quantitativ abfiltriert werden konnte, ist also bedeutungslos: gerade auf das Sichabsetzen in makroskopischen Partikeln kommt es an. Schon hiermit ist diesen Versuchen jede Beweiskraft genommen; auch ihre weiteren Argumente lassen sich alle widerlegen. Offenbar hat derselbe technische Fehler sie auch irregeführt beim Feststellen ihres Befundes, dass „durch Hydrolyse mit Salzsäure aus Blut keine nennenswerte Menge Zucker abspaltbar ist“. Dass übrigens nach diesen Autoren die von uns schon referierten Versuche von

Glassmann die Ersten seien, die dafür sprechen, dass im Blute ausser dem freien Blutzucker noch andere reduzierende Substanzen zugegen seien, ist eine Meinung, die nochmals aufs deutlichste zeigt, dass unser jetziger Versuch, die diesbezüglichen Tatsachen zu sammeln, zu ordnen und ihnen in dieser Weise mehr Bekanntheit zu geben, keineswegs überflüssig ist. Schliesslich müssen wir noch darauf hinweisen, dass Pringsheims Versuche nur äusserst spärlich waren, dass er bisweilen mit 10%iger (!) Salzsäure hydrolysiert hat, also ohne jeden Zweifel auch das Eiweiss selbst in erheblichem Masse abgebaut hat, und diese Abbauprodukte in absolut ungenügender Weise entfernt hat.

Es braucht denn auch nicht zu wundern, dass Soerensen und Lorber (497) sich beeilt haben, die „Befunde“ Pringsheims in allen Punkten experimentell zu widerlegen, und mit Recht. Damit wollen sie aber keineswegs ausschliessen, dass eine Zucker-Eiweiss-Kondensation stattfinden kann, aber ihr Ziel ist nur, festzustellen, dass die von Pringsheim gewählte Versuchsanordnung vollkommen ungeeignet ist, dies festzustellen. Auch von einer unzweideutigen Änderung der optischen Rotation konnte Soerensen bisher beim Zusammenbringen von Eiweiss- und Zuckerlösungen nichts bemerken.

Auf anderen Wegen sind die Schlüsse Pringsheims von v. Euler und Brunius (178, 179) kontrolliert worden, und zwar dadurch, dass der Gefrierpunkt der Lösungen fortlaufend bestimmt wurde. Während diese Methode eine vollkommene Bestätigung von Neubergs Befunden (s. unten) lieferte, dass Fructose sich schnell mit Aminosäuren kondensiert, Glucose erst allmählich, waren die Ergebnisse mit Serumalbumin und Fructose, mit Wittepepton und Fructose und mit Wittepepton und Glucose zwar auch positiv, aber quantitativ in viel geringerem Ausmasse als Pringsheim c. s. mitgeteilt hatten. Auch hier wirkte Glucose viel langsamer als Fructose; beim Verschieben des  $p_H$  nach der alkalischen Seite nahm die Kondensation von Glucose mit Witte-Pepton zu. Auch bei Fructose und Serumalbumin oder Blutserum fand eine sofortige geringe Erniedrigung der Molekelzahl statt, aber nicht bei Glucose und Serum; doch blieb auch bei allen diesen Kombinationen die Kondensation quantitativ weit zurück hinter den von Pringsheim angegebenen Zahlen. Bei Eulers Versuchen muss man bemerken, dass nur die sofort nach dem Zusammenbringen ausgeführten Bestimmungen Wert haben können; da betrogen aber die polarimetrischen Ausschläge nur 0,009°, 0,015° und 0,024°, während nach ihrer eigenen Angabe der mittlere Fehler bei solchen Bestimmungen etwa 0,006° beträgt! Ihre länger dauernden Versuche, wo Zucker und Eiweiss 36 Stunden zusammen belassen wurden, ohne dass offenbar auf Sterilität geachtet wurde, sind ohne jede Bedeutung; dort werden die Bakterien wohl eine ganze Anzahl Moleküle fortgeschafft haben!

Doch erhielten sie, Pringsheims Versuche mit derselben Technik wiederholend, dieselben Ergebnisse wie dieser Autor: 40% der Glucose war (schien!) verschwunden. Aber die optische Rotation war unverändert und stimmte genau mit der Summe der beiden Komponenten überein. Obwohl dies nichts gegen eventuelle Kondensation erweist, spricht es ebensowenig dafür. Deshalb zweifeln sie (vollkommen zurecht!) an der Brauchbarkeit der Bertrand-Methode in diesen Fällen, und betrachten die Kondensation von Hexosen mit Proteinen noch als unbewiesen.

Neuberg und Kobel (410, 411) haben besonders die optische Rotation bei solchen Prozessen verfolgt. Ihre erste Beobachtung war, dass d-l-Alanin und d-Fructose bei Zimmertemperatur sogleich in eine polarimetrisch verfolgbare Reaktion miteinander treten; später hat sich herausgestellt, dass man das Alanin ersetzen kann durch l-(+)Alanin, l-(+)Asparaginsäure oder d-(+)Glutaminsäure (beide letztere als neutrales Mononatriumsalz); die Abweichungen können hier einige Grad betragen. Die Fructose zeigte sich durch Hexosediphosphat ersetzbar. Merkwürdigerweise scheinen die Substanzen doch keine eingreifende Veränderungen zu erleiden; sie werden z. B. normal oder sogar beschleunigt vergoren. Auch Harnstoff, Thioharnstoff, Argininnitrat haben einen derartigen Einfluss auf die optische Rotation. Bei Glucose waren die Ausschläge viel geringer als bei Fructose oder Hexosediphosphat. Auch

die drei jetzt bekannten Hexosemonophosphorsäureester (von Robison, von Neuberg und die aus Rohrzuckermonophosphorsäure) zeigten mit Aminosäuren, insbesondere Asparaginat und Glutaminat, deutliche polarimetrische Ausschläge. Sogar auch wenn sehr frisches Pferdeserum mit Glucose oder Fructose vermischt wurde, stimmte die optische Rotation des Gemisches nicht mit der Summe der beiden Komponenten überein. Bei Fructose war die Verschiebung nach links gerichtet; die schwächere bei Glucose hingegen nach rechts; die Ausschläge waren aber kleiner als bei einfacheren Systemen.

In späteren Versuchen stellte sich heraus, dass ähnliche Reaktionen, sich äussernd in unmittelbarer Änderung der optischen Rotation, auch stattfinden, wenn man anstatt der Zucker Substanzen wie Glyoxal, Methylglyoxal, Dioxyaceton u. dgl. verwendet. Es zeigte sich aber, dass dabei gleichzeitig die Aminosäuren (Alanin, Glykokoll, Phenylaminoessigsäure) desamidiert wurden: bei Zusatz von Alkali entwich Ammoniak. Dasselbe fand statt bei Aminopurinen, z. B. Guanin; als desaminierendes Agens zeigten sich auch die Zuckerphosphatester und Brenztraubensäure wirksam.

Wie gesagt, meinten Pringsheim und Winter (447) Kondensation von Eiweiss mit reduzierenden Zuckern beobachtet zu haben; Neuberg sagt, dies kontrolliert zu haben und auf Grund von vier unabhängigen Methoden zum Schluss gekommen zu sein (Dialyse, Eiweissflockung bei neutraler Reaktion, Trennung mittels Alkohol und Titration des [auch des nichtabgeschiedenen] Kupferoxyduls), dass innerhalb der analytischen Fehlergrenze die gesamte sogenannt gebundene Menge Kohlenhydrat als freier Zucker nachweisbar ist. Doch haben noch vor kurzem wieder de Anciaes und Trincao (2a) behauptet, dass, wenn man z. B. eine Glucoselösung (reduzierendes Vermögen = 0,95—1,02<sup>0</sup>/<sub>100</sub> Glucose) und eine Albuminlösung (reduzierendes Vermögen = 0,79—1,36<sup>0</sup>/<sub>100</sub> „Glucose“) miteinander vermischt, das Gemisch eine Erniedrigung des reduzierenden Vermögens aufweist von etwa 0,35<sup>0</sup>/<sub>100</sub> im Vergleich mit dem errechneten Wert (alles bei Bestimmung nach Hagedorn-Jensen). Die Autoren denken an ein Adsorptat von Glucose am Eiweiss, das durch die Zinkhydroxydbehandlung ausgefällt wird.

Die zuerst von Pringsheim c. s. (l. c.) beobachtete Tatsache war, dass die Spaltung von Stärke zu Maltose durch Amylase beträchtlich beschleunigt wird, wenn man das Digestionsprodukt bestimmter Eiweissarten (mittels Pepsin) hinzusetzt; war nun aber einmal, wie aus dem Reduktionsvermögen ersichtlich, alles in Maltose umgesetzt, so sank nachher der Reduktionswert wieder stark ab, sei es auch nur bei bestimmten Präparaten. Das brachte ihn auf die Idee der Zucker-Eiweisskondensation. Eine andere merkwürdige Tatsache konnten Borsook und Wasteney's (85) feststellen, nämlich die, dass in alkalischer Lösung, bei Abwesenheit von Enzymen, eine Reaktion stattfindet zwischen Glucose einerseits und Eiweissderivaten andererseits, die sich darin äussert, dass der freie Aminostickstoff abnimmt und demgegenüber

das Vermögen auftritt, Methylenblau in nahezu neutraler Lösung schnell zu reduzieren. Diese Reduktion kann noch beschleunigt werden dadurch, dass man Phosphat zusetzt; dies gelingt aber nur bei Glycin und Pepton, nicht aber bei Albumin. Auch Zusatz von gewaschenem Muskel wirkt beschleunigend (das erinnert an die Neoglucoseversuche von Lundsgaard und Holboell!). Euler c. s. haben dieses Auftreten des Vermögens zur Reduktion von Methylenblau bestätigen können für das Reaktionsprodukt von Glucose mit Glykokoll (180). Bei schwach alkalischer Reaktion und Zimmertemperatur wird das Gleichgewicht, bei dem maximal 58% der Glucose sich bindet, innerhalb 30—40 Stunden erreicht. Sie verfolgten die Reaktion mit Hilfe von Gefrierpunktsbestimmungen.

Kostytschew c. s. (294) meinten, dass nur Aldosen (Glucose, Galaktose, Arabinose) dieses Vermögen zur Kondensation mit Aminosäuren u. dgl. hatten; man kann die gebildeten Reaktionsprodukte mittels Kupferhydrat fällen, zersetzt man dann diesen Niederschlag mit  $H_2S$ , so regeneriert der Zucker, während die Aminosäuren eingreifend verändert werden. Maillard (370) war wohl einer der ersten, der sich mit derartigen Reaktionen beschäftigt hat. Brachte er 1 Teil Glykokoll, 4 Teile Glucose und 3—4 Teile Wasser auf dem Wasserbade zusammen, dann färbte sich nach höchstens 10 Minuten die Flüssigkeit zuerst gelb, dann braun; es entwich dabei  $CO_2$ , ungeachtet, ob er in einer Atmosphäre von  $O_2$ , von  $N_2$ , von  $H_2$  oder in vacuo arbeitete. Ausser mit Glykokoll gelang es auch mit Alanin (am stärksten), mit Sarcosin, Valin, Leucin, Tyrosin und Glutaminsäure. Von den Zuckern wirkten Xylose und Arabinose sofort auf die Aminosäuren ein, Fructose, Galaktose, Glucose und Mannose ziemlich schnell, Saccharose bei stundenlanger Beobachtung gar nicht. Als Produkt erhielt er braune stickstoffhaltige Substanzen, die sich anfangs wohl, später nicht mehr in Wasser oder Alkalien lösten. Maillard sah schon die grosse biologische Wichtigkeit derartiger Reaktionen ein, gerade weil sie so ausserordentlich leicht verlaufen: heftig bei  $150^\circ$ , schnell bei  $100^\circ$ , langsam bei  $37^\circ$  und, wenn einmal im Gange, wochenlang bei  $0^\circ$ .

Wir haben uns so lange bei diesen Reaktionen aufgehalten, weil sie vielleicht auch für die uns beschäftigende Frage des „gebundenen Zuckers“ im Blute von Bedeutung sind.

## **IX. Kondensation von Hexosen und Aminohexosen mit anderen Kohlenhydraten: Amylosen (Glykogen), Zuckeranhydride.**

Die niedrigsten polymeren Kohlenhydrate, die für uns in Betracht kommen, haben wir, da sie noch reduzierende Eigenschaften besitzen (Lactose, Maltose), schon an anderer Stelle besprochen (S. 17): darauf sei hier verwiesen. Hier wollen wir uns auf die höheren Polymeren beschränken.

Pavy (433, S. 6) fasst unter dem Namen Amylosen alle die Kohlenhydrate zusammen, die die Formel  $(C_6H_{10}O_5)_n$  besitzen, also den niedrigsten Grad der Hydratation darstellen; die Gruppe umfasst also unter anderem Cellulose, Stärke, Glykogen und Dextrine.

Dies alles möge ganz einfach scheinen, in Wirklichkeit ist auch dieses anscheinend schon so gründlich bekannte Gebiet ein Labyrinth voll Schwierigkeiten. So sagte z. B. vor kurzem noch ein Kenner der Kohlenhydrate wie Karrer (285, S. 50) von den Dextrinen, also den einfachsten Mitgliedern dieser Gruppe, sie gehörten „zum Unerfreulichsten, das die Chemie der Polysaccharide kennt.“ Wir werden uns damit also nur ganz oberflächlich beschäftigen können.

An erster Stelle müssen wir im Vorübergehen noch dem Glykogen unsere Aufmerksamkeit schenken, und zwar fangen wir an mit einer Frage, die manchen etwas sonderbar anmuten wird: Was ist eigentlich Glykogen, d. h. dasjenige Glykogen, dem man im physiologischen Experimente auf Schritt und Tritt begegnet?

Die üblichen Kriterien sind nämlich nur: dass die betreffende Substanz gegen Einwirkung von starkem Alkali beständig ist, nach Behandlung mit Mineralsäure ein reduzierendes Hydrolysenprodukt liefert und sich mit Jod bräunt; der eine oder andere Forscher überzeugt sich noch, dass sie sich in Wasser zu einer opaleszierenden, optisch rechtsdrehenden Flüssigkeit löst. Eine weitere Identifikation unterbleibt immer. Nun haben aber schon vor einem halben Jahrhundert Boehm und Hoffmann (80) gemeint, auf Grund von konstanten Unterschieden in Opalescenz und Farbreaktionen verschiedene Arten von Glykogen unterscheiden zu können. So sollte das Muskelglykogen ziemlich stark von dem aus der Leber abweichen. Dies wird vielleicht noch bestätigt durch den neueren Befund von Soskin (500), dass bei Fehlen der Leber das Muskelglykogen keine brauchbare Quelle für Blutzuckerbildung ist.

Viel Aufmerksamkeit hat man diesen Differenzen bisher nicht geschenkt, obwohl die Tatsachen unseres Wissens auch nicht widerlegt sind. In letzter Zeit aber tauchen von Zeit zu Zeit wieder Mitteilungen auf, worin Versuchsergebnisse bekanntgegeben werden, die wieder Hinweise in dieser Richtung zu geben scheinen. So denken z. B. Folin und Berglund an die Möglichkeit, dass z. B. das Glykogen aus Menschenblut ein anderes ist als das aus Austern (202). Steinberg und Elberg haben gleichfalls das Problem berührt (504). Sie glauben, dass, während zur Bildung von Dextrogen (Glykogen aus Dextrose) die Hilfe des Pankreasinkretes unbedingt notwendig ist, die Bildung von Fructogen (Glykogen aus Fructose) auch nach vollständiger Entfernung der Bauchspeicheldrüse stattfinden kann. Das hatte auch de Meyer (392) schon vor vielen Jahren in einer seiner bahnbrechenden Untersuchungen gefunden; ja, er hatte, noch allgemeiner, feststellen können, dass pankreaslose Tiere wohl Glykogen aufbauen können aus

Ketosen (Fructose, Saccharose, Inulin), nicht mehr aber aus Aldosen. Steinberg c. s. erinnern noch an weitere derartige Befunde anderer Autoren, nach denen z. B. nach Vergiftung mit bestimmten Lebergiften (wie Phosphor) die Leber nur das Vermögen verliert, aus Glucose Glykogen aufzubauen, dies aber tadellos tut, wenn Fructose oder Saccharose zur Verfügung stehen. Eine andere ähnliche Tatsache ist, dass grosse Adrenalindosen beide Glykogensorten mobilisieren, kleine aber nur das Dextrogen, während das Fructogen unberührt bleibt. Auch ist schon lange bekannt, dass Diabetiker aus Fructose, die sie ziemlich gut vertragen, noch Glykogen bilden können. So soll auch ein isolierter Fructogendiabetes vorkommen, bei dem die Patienten keine Fructose vertragen, während die Toleranz für Glucose ungestört ist.

Macleod (366, S. 132) betrachtet das aus Fructose aufgebaute Glykogen wohl als identisch mit dem aus Glucose gebildeten, weil sie beide bei Hydrolyse Glucose liefern (ibid. S. 143). Aber wenige Seiten weiter (ibid. S. 227) zitiert er doch die oben schon genannten Befunde von Pollak, nach denen aus Glucose aufgebautes Glykogen bei Kaninchen durch kleine Dosen Adrenalin viel schneller verschwindet, als wenn es aus Fructose aufgebaut war; weiter nennt auch er die schon genannte Tatsache, dass bei Diabetes Glucose nicht, Fructose oft ziemlich gut vertragen wird, und erwähnt auch den schon genannten Befund Neubauers, dass bei phosphorvergifteten Tieren die Leber noch Glykogen aus Fructose oder Rohrzucker bilden kann, aber nicht mehr aus Glucose. Absolut feststehend scheint also auch Macleods Überzeugung betreffs der Identität alles Glykogens doch noch nicht zu sein!

Sogar der Chemiker Karrer (285, S. 98) glaubt, dass Glykogen nicht eine einfache Substanz ist, sondern dass der Begriff mehrere „Arten“ umfasst.

Ein weiterer Punkt, der oft übersehen wird, ist, dass auch das weitestgehend gereinigte Glykogen nicht ausschliesslich aus C, H und O besteht, sondern immer daneben auch Mineralbestandteile, besonders Phosphor, enthält. Deshalb muss man sich immer vor Augen halten, dass z. B. etwaiges Verschwinden von Phosphat aus dem Blute noch keineswegs auf Lactacidogenaufbau hinzuweisen braucht. Denn das Glykogen enthält, auch nach den modernsten Forschungen (285, S. 92), immer soviel Phosphor, dass dies, ebenso wie beim Lactacidogen, mehr sein muss als ein zufälliger Nebenfund.

Für uns wichtig ist noch Karrers Meinung, dass der Abbau des Glykogens und des Lactacidogens in vivo nicht über Glucose verlaufe, sondern einen andern Weg einschlage als bei Hydrolyse in vitro mit Diastase oder Säure (l. c. S. 100).

Dass im Blute Glykogen, oder wenigstens eine nahe verwandte Substanz vorkommen soll, glaubte als erster Salomon (478, 479) gezeigt zu haben. Er fand es in geringer Menge in der Leukocytenschicht koagulierten Pferdeblutes. Als charakteristische Eigenschaft nennt er nur, dass die schwach opalescente wässrige Lösung sich mit Jodjodkaliumlösung rot färbte, und

diese Farbe beim Erwärmen verschwand, um beim Abkühlen wiederzukehren, Er glaubte es auch in normalem und pathologischem Menschenblut angetroffen zu haben, und dachte an die Möglichkeit, dass es konstant vorkomme, besonders in den weissen Blutzellen. Später haben Huppert und Czerny (270) analoge Beobachtungen mitgeteilt. Sie enteiweissten Blut mit einem Kupfersalz und erhielten aus dem Filtrat ein Produkt, das in trockenem Zustande ein weisses Pulver war, sich in Wasser zu einer opaleszenten Flüssigkeit löste, daraus wieder mit Alkohol ausgefällt werden konnte, polarisiertes Licht stark nach rechts drehte, sich mit Jod bräunte und nach Erhitzen mit Mineralsäure alkalische Kupferlösung stark reduzierte. Eine Elementaranalyse haben sie aber nicht ausgeführt; doch sind sie überzeugt, dass es sich um Glykogen handelte. Wenn ihnen genügend Blut zur Verfügung stand, konnten sie darin immer die Anwesenheit der Substanz zeigen. Rinderblut lieferte 5—10 mg pro Liter, Eiter viel mehr. Nachher ist Huppert (269) nochmals auf denselben Gegenstand zurückgekommen. Hierbei gab er selber zu, dass die Färbung mit Jod an sich nichts beweise, weil z. B. die Marksubstanz der Nervenfasern sich ebenso färbt wie Glykogen. Übrigens zeigte die von ihm ausgearbeitete Methode extrazugesetztes Glykogen auch in minimalen Mengen genau an; im Prinzip bestand sie aus einer Enteiweissung mittels Kupferacetat, das, unter bestimmten Voraussetzungen, alles Glykogen in Lösung lässt. Die übriggebliebenen Eiweissreste wurden mit Quecksilberkaliumjodid entfernt; aus der dann resultierenden Flüssigkeit wurde das Glykogen durch Alkohol ausgefällt. Immer wurde Asbest zum Filtrieren benutzt, nie Filtrierpapier!

Die in der Literatur angegebenen Daten betreffs des Glykogengehalts von Normalblut sind alle etwa von derselben Grössenordnung: Bufano (98) nennt 0,0045 pro mille, Huppert, wie gesagt, 0,005—0,010 pro mille, Condorelli (125) gleichfalls 0,010 pro mille.

Nach Folin (202) sind es besonders die Zellen des Blutes, die Glykogen, und vielleicht auch noch andere Polysaccharide, enthalten.

Abderhalden (1) konnte aus einem Handelspräparat von Serumglobulin mit Pflügers Glykogenmethode eine dextrinartige Substanz herstellen, die bei saurer Hydrolyse gleichfalls Glucose lieferte.

Einen wie grossen Anteil Glykogen und Dextrin aber haben an der Hy-S, steht noch keineswegs fest. Denn die wenigen Autoren, die sich mit der Sache beschäftigt haben, liessen sich immer nur von einer Eigenschaft führen, und zwar, dass die in Rede stehende Substanz gegen starke Lauge beständig war und bei Hydrolyse mit Säure ein reduzierendes Produkt lieferte. Diesen Voraussetzungen genügen aber ausser Glykogen noch mehrere Substanzen, wie wir weiter unten noch besprechen werden.

Pavy (433, S. 39) war einer der ersten, die die Hy-S anfangs als Glykogen betrachteten, weil sie gegen (verdünnte) Lauge beständig war und mit Alkohol ausfiel. Später hat sich Lépine dieser Meinung angeschlossen. Bierry aber

glaubte, dass die Substanz, die bei saurer Hydrolyse ein reduzierendes Produkt liefert, der Hauptsache nach wenigstens kein Glykogen sein kann, und zwar deswegen, weil sie zwar gegen warme verdünnte Kalilauge beständig ist, die Einwirkung der konzentrierten Lauge aber, die man bei Glykogenbestimmungen verwenden soll, nicht aushält. So gibt seine Mitarbeiterin Mme Randoïn (453, S. 184) an, dass warme  $\frac{1}{2}\%$ ige Lauge, die den freien Blutzucker zum Teil zerstört, den „Eiweisszucker“ unberührt lässt; 30 Minuten dauerndes Erhitzen mit  $1\%$ iger Kalilauge im Autoklaven bei  $120^{\circ}$  würde aus verdünntem Blut den freien Zucker vollständig entfernen, während die Hy-S auch dann noch intakt bleibe. Darauf gründete sie eine von ihren Methoden zur quantitativen Bestimmung der Hy-S (453, S. 215): Blut wird mit wenigstens 3 Teilen destilliertem Wasser verdünnt. Dann setzt man pro 100 ccm Flüssigkeit 1 g reines KOH zu, und erhitzt so lange auf dem Wasserbade auf  $100^{\circ}$ , bis sich die Lauge unter Schütteln vollständig gelöst hat. Dann wird es während 30 Minuten bei  $120^{\circ}$  im Autoklaven gehalten, und nach Abkühlen neutralisiert. Die in dieser Weise ihres freien Zuckers beraubte Flüssigkeit kann dann weiter in der üblichen Weise mit Säure hydrolysiert werden.

Betrachtet man nun weiter die Arbeiten aller Autoren, für die die Beständigkeit gegen Lauge das einzige Kriterium war, so zeigt es sich, dass die Gruppe nicht nur Glykogen, sondern auch noch andere, unbekannte, oft stickstoffhaltige hydrolysierbare Substanzen umfasst.

Solche Substanzen, die er anfangs als Amylosen betrachtete, glaubte Pavy (433, S. 33) herstellen zu können aus allerhand Eiweissarten, wenn er diese zuerst mit verdünnter Kalilauge in der Kälte digeriert und dann aufkochte und weiter verarbeitete. Nach Hydrolyse mit Säure (bei Verwendung  $2\%$ iger Schwefelsäure entweder durch Kochen während  $1\frac{1}{2}$  Stunden oder durch Erhitzen im Autoklaven auf  $150^{\circ}$  während 30 Minuten), konnte dann das reduzierende Vermögen des Hydrolysats bestimmt werden. So fand er z. B. in Blutserum nach dieser Verarbeitung ein reduzierendes Vermögen von nicht weniger als 16,0 pro mille nach Digestion mit  $10\%$ iger Kalilauge, von 6,0 pro mille nach Verwendung von  $2\%$ iger.

Als zweite Methode (434, S. 42) kann man die betrachten, wobei zuerst durch wiederholte Extraktion mit Alkohol alle freien Zucker, sowohl die einfachen als die hydrolysierbaren, entfernt wurden und dann der Rückstand zuerst mit HCl in der Kälte digeriert und dann aufgekocht wurde. Aus dem Hydrolysat wurden die stickstoffhaltigen Eiweissabbauprodukte mit Phosphorwolframsäure entfernt nach einem bestimmten Verfahren, und in der schliesslich erhaltenen Flüssigkeit das Reduktionsvermögen bestimmt.

Aus Blut kann man nach Pavy (433, S. 65) ein ähnliches „Kohlenhydrat“ in folgender Weise herstellen: Den bei der alkoholischen Extraktion von defibriniertem Blut hinterbliebenen Kuchen löst man in ebensoviel starker Kalilauge auf, wie man zur Glykogenbestimmung verwendet, und giesst die

Flüssigkeit dann in einen Überschuss Alkohol. Nachdem die Flüssigkeit genügend lange gestanden hat, sammelt man den Niederschlag und hydrolysiert ihn mit Schwefelsäure. Diese Herstellungsmethode stimmt also mit der für Glykogenbestimmungen in Organen üblichen vollkommen überein.

Organe werden erst gründlich zerkleinert, dann einige Male hintereinander mit Alkohol zwecks Entfernung des freien Zuckers extrahiert und dann in derselben Weise verarbeitet. Pavy glaubte, dass die Menge Zucker, die bei Einwirkung von 2%iger Schwefelsäure aus histologisch glykogenfreien Organen in Freiheit gesetzt wird, nicht mehr als 2—3 pro mille betrage, und also bei den Organen, wo ordentliche Mengen Glykogen zugegen sind, zu vernachlässigen sei. Doch widmet er diesem Gegenstand noch ein eigenes Kapitel (433, S. 207). Aus der Herstellungsmethode ist ersichtlich, dass die in Rede stehende Substanz gegen starke Kalilauge beständig war, und also verschieden von dem, was wir in unseren später mitzuteilenden eigenen Versuchen als Hy-S in Organen festgestellt haben, nämlich gerade die Differenz zwischen den durch direkte Hydrolyse bestimmten und den aus Glykogengehalt plus freiem Zuckergehalt berechneten Zuckerwerten. Praktisch ist sie also in allen Glykogenbestimmungen mit einbegriffen, und eine Trennung ist unmöglich. Pavy entdeckte die Substanz denn auch erst in Fällen, wo Glykogen histologisch abwesend war, und nichtsdestoweniger doch durch Hydrolyse des Alkoholniederschlags Reduktionszunahme auftrat. Damit diese maximal werde, muss man aber mit stärkerer Säure hydrolysieren, und zwar mit 10%iger statt 2%iger Schwefelsäure. Hier scheint also  $H_2SO_4$  wohl angebracht zu sein. Demgegenüber zerstört dies den aus dem wirklichen Glykogen abstammenden Zucker mehr oder weniger. Deshalb sind die gefundenen Werte unvermeidlich immer zu niedrig, wenn beide Komponenten nebeneinander anwesend sind. Pavys Meinung, dass die Substanz zu den „Amylosen“ gehöre, ist nur eine Voraussetzung (433, S. 209). Eine aus Filtrierpapier stammende Verunreinigung kann es sicher nicht gewesen sein, denn es wurde ausschliesslich Glaswolle benutzt.

Es fiel Pavy auf, dass die hydrolysierbare Substanz sich ebenso wie Glykogen aus dem alkalischen Hydrolysat mit Alkohol ausfällen liess; gerade diese Eigenschaft war es, die ihn anfänglich auf den Gedanken brachte, es sei tatsächlich Glykogen. Bald bemerkte er aber Unterschiede: je höher der Alkoholgehalt, um so mehr wurde von der Substanz ausgefällt, im Gegensatz zum Glykogen, das sehr leicht vollständig niederschlägt. Weiter war die Jodreaktion negativ. Dies alles brachte Pavy allmählich zur Überzeugung, dass die Substanz vielmehr Landwehrs tierischem Gummi nahestand. Aus der nach saurer Hydrolyse erhaltenen Flüssigkeit, die jetzt kräftig reduzierte, wurden Osazone erhalten (433, S. 41), die Krystalle von verschiedener Form lieferten. Als Typus wählt Pavy immer die aus Eiereiweiss erhaltenen Krystalle und bildet diese auch ab; da der freie Zucker durch die Alkalibehand-

lung ohne Zweifel zerstört war, und die Krystalle doch oft die für Phenylglucosazon charakteristischen Eigenschaften aufwiesen, ist es im Lichte der neueren Untersuchungen wahrscheinlich, dass sie vom Chitosamin, abgespalten aus den Mucoiden, abstammten. Mit dieser Vermutung stimmt, dass das Hydrolysenprodukt unvergärbbar war. Von letzterem zählt Pavy (433, S. 40) noch eine Anzahl weiterer Eigenschaften auf, die wir hier vollständigkeithalber kurz folgen lassen:

Nachdem das Hydrolysenprodukt zur Trockene abgedunstet war, sah der Rückstand aus wie ein zuckerartiger Extraktivstoff und roch deutlich nach gebranntem Zucker; er war gut löslich in Wasser und in 90%igem Alkohol, schlecht löslich hingegen in absolutem Alkohol. Er dialysierte durch tierische Membranen. Beim Kochen mit Kalilauge (Moore'scher Versuch) färbte er sich dunkler. Er löste Kupferoxyd bei Gegenwart von überschüssiger Kalilauge meistens auf (Trommer) ohne Biuretfarbe zu geben und reduzierte Fehlingsche Lösung, wobei sich orangerotes Kupferoxydul abschied. Nach 2—3stündigem Erhitzen auf dem Wasserbade mit Phenylhydrazin entstand ein krystallinisches Osazon von Nadeln in Büscheln oder kugeligen Aggregaten von etwas wechselndem Aussehen: sie waren in Alkohol löslich. Mit Benzoylchlorid entstand ein unlösliches Produkt, ebenso wie bei den bekannten Kohlenhydraten. Die Molisch-Reaktion war positiv; es entstand ein dunkelvioletter Farbstoff, dessen Eigenschaften mit denen übereinstimmten, wie sie aus Zuckern erhalten werden; er schlug bei Verdünnung nieder, und der Niederschlag löste sich wieder mit gelber Farbe in Alkohol, Äther oder KOH, nicht aber in HCl.

Es bestanden hingegen Unterschiede gegenüber der Farbe, die Peptone oder Albumin bei dieser Reaktion liefern. Auch mit Thymol und konzentrierter Schwefelsäure im Überschuss verhielt die Substanz sich wie Zucker: der entstandene tiefrote Farbstoff wurde bei Verdünnung gefällt; der Niederschlag löste sich in Alkohol, Äther oder KOH mit blassgelber, in Ammoniak mit hellgelber Farbe, und war wiederum unlöslich in HCl. Bleioxyd fällte das reduzierende Hydrolysenprodukt; dann konnte es aus dem Niederschlag wiedergewonnen werden.

Aus all diesen Gründen glaubte Pavy (l. c. S. 42), dass die in Rede stehende Substanz tatsächlich ein Zucker war, der aber unvergärbbar und optisch inaktiv war. Ob sie Stickstoff enthielt, scheint er nicht untersucht zu haben, und ebensowenig hat er das Osazon auf seine chemische Zusammensetzung analysiert. Er erwähnt noch seinen Befund, dass auch bei Einwirkung von reinem proteolytischem Ferment auf gereinigtes Eiereiweiss eine Substanz entstehe, die mit Phenylhydrazin typische Krystalle liefert; was hiervon die Bedeutung ist, ist uns zunächst entgangen.

Pavy selbst war überzeugt (l. c. S. 55), dass es ihm bis daher noch nicht gelungen war, die in dieser Weise aus Eiweiss hergestellte reduzierende Substanz vollständig als Glucose zu identifizieren.

Mörner (400) erhilet beim Erhitzen von Blutglobulin mit Wasser ein gummiartiges, nichtreduzierendes Produkt, das N enthielt, obwohl Biuret- und Millon-Reaktion negativ waren. Mit Jod färbte die Substanz in wässriger Lösung sich nicht; sie war schwach linksdrehend und zeigte mit der gehörigen Menge  $\alpha$ -Naphthol und konzentrierter Schwefelsäure eine rotviolette Farbe, während die Pentosenreaktion mit Phloroglucin und HCl zweifelhaft war. Wurde diese gummiartige Substanz mit verdünnter Salzsäure hydrolysiert, so entstand ein Produkt, das alkalische Kupferlösung ziemlich langsam, aber doch auch in grösserer Verdünnung noch deutlich reduzierte, optisch inaktiv

war und in ziemlich beträchtlichen Mengen ein in warmem Wasser lösliches Osazon lieferte. Nach wiederholtem Umkrystallisieren aus warmem Wasser zeigte sich dies als Bündel dünner schmaler rhombischer Plättchen (F. 170 bis 172°), identisch mit den unmittelbar aus Globulin hergestellten.

Auch Langstein (307) erhielt bei Behandlung von Blutglobulin mit verdünnter Lauge eine dextrinartige Substanz: wurde diese aber mit Diastase behandelt, so wurde keine Glucose frei. Aufspaltung des Globulins auf dem heissen Wasserbade mit Kalilauge während mehrerer Stunden, Einengen der Lösung und wiederholtes Fällen des sirupösen Rückstandes mit Alkohol ergab schliesslich ein in weissen Flocken ausfallendes Produkt, das äusserst hygroskopisch war, an der Luft unter Braunfärbung schnell zerfloss und im Exsiccator zu einer braunen harzartigen Masse eintrocknete. Die Biuretreaktion war negativ, die Molisch-Reaktion aber sehr stark positiv. Vor Hydrolyse mit Säure reduzierte die Substanz nicht, wohl aber danach. Doch war die chemische Zusammensetzung der verschiedenen Präparate nicht konstant, der N-Gehalt zeigte jedenfalls grosse Schwankungen. Bei der sauren Hydrolyse entstand Glukosamin (304).

Ausser durch Kochen mit KOH konnte Langstein dieselbe Substanz auch aus dem Globulin herstellen durch Kochen mit Wasser oder Baryt. Er meint, sie gleiche vollkommen dem von Fraenkel aus Eiereiweiss hergestellten „Albumin“, nur mit dem Unterschied, dass beim Blutpräparate die Ehrlichsche Dimethylaminobenzaldehydreaktion negativ war (309).

Weiter hat seinerzeit Langstein (303, 306) aus nicht weniger als 120 l Pferdeblut 1 kg krystallisiertes Serumalbumin hergestellt. Wie wir schon (S. 100) sahen, scheiterten seine Versuche, daraus durch saure Hydrolyse ein Kohlenhydrat abzuspalten; bei Verwendung von 3, 10 oder 20%iger Salz- oder Schwefelsäure blieb die  $\alpha$ -Naphtholreaktion nach Molisch deutlich, aber das Reduktionsvermögen war minimal; die Pentosenreaktion war negativ, und es gelang nicht durch Benzoylieren daraus ein bestimmtes Produkt herzustellen. Behandelte er das Albumin kräftig mit Alkali, so waren gleichfalls die Furfurolreaktionen sehr stark, aber es gelang ebensowenig ein freies Kohlenhydrat zu isolieren, und das Reduktionsvermögen war gleich Null. Wurde dieses Produkt nun aber während 3 Stunden am Rückflusskühler mit 5%iger Schwefelsäure gekocht, so wurde eine deutlich reduzierende Substanz erhalten, die ein typisches Osazon lieferte, das aussah wie Glukosazon und, aus Pyridin umkrystallisiert, einen Schmelzpunkt von 196—200° aufwies. Mit Hilfe des Benzoylierungsproduktes liess sich die in Rede stehende Substanz als Chitosamin (Glucosamin) erkennen. Die Ausbeute war aber so gering — auf Glucose umgerechnet 0,5% des Trockenalbumins, — dass es für das uns beschäftigende Problem kaum in Frage kommt. Der Gegensatz zwischen der intensiven Furfurolreaktion und dem schwachen reduzierenden Vermögen veranlasste Langstein, zu untersuchen, ob nicht vielleicht noch eine zweite Substanz

als Ursache der Farbreaktion zugegen war. Beim Studium dieser Frage fand er, dass, wenn er statt  $H_2SO_4$  sehr verdünnte Salzsäure zur Hydrolyse des Produktes der alkalischen Digestion verwendete, die Furfurolreaktionen in einem bestimmten Augenblick eine maximale Intensität erreichten, um dann wieder schnell abzunehmen. Langstein glaubt, dass hier vielleicht eine Kohlenhydratsäure in Frage käme, obwohl er Zuckersäure und Gulonsäure ausschliessen konnte.

Auch nach peptischer Digestion der Bluteiweisse wurde ein ähnliches Kohlenhydrat vom Typus einer Säure erhalten, das mit Bleiacetat ausfiel, Salze bildete und sich mit Benzoylchlorid kombinierte zu einer krystallinischen Verbindung von der Zusammensetzung: C 58,13%, H 5,2%, N 2,4%, die ausserdem 6% Asche enthielt, zumeist Kalium. Dies hält er für das Kaliumsalz einer benzoilierten Kohlenhydratsäure, aber er teilte keine weitere Besonderheiten mit. Bei den Produkten der peptischen Digestion wurde ausserdem noch ein polymeres Kohlenhydrat angetroffen, das genau dem „Albumin“ aus Eiereiweiss gleichkam; die Elementaranalyse stimmte fast genau mit der Formel  $C_{12}H_{24}N_2O_9$ ; es gelang aber nicht daraus Chitosamin abzuspalten. Später hat er den Versuch nochmals wiederholt (307): sättigte er das Digestionsprodukt von Serumalbumin und Pepsin mit Ammonsulfat, so erhielt er ein Filtrat, das eine sehr starke Molisch-Reaktion zeigte; Alkohol fällte daraus ein „Glykopepton“.

Nach Pavy (434, S. 78) beträgt der „Amylose“gehalt des normalen Kaninchenblutes, als Glucose berechnet, 1,25—1,55 pro mille (Mittel aus 11 Versuchen). Intravenöse Injektion von Kochsalzlösung änderte daran nichts: 1 g Glucose pro kg erhöhte die Werte ein wenig (um etwa 0,20 pro mille), wonach wiederum eine Erniedrigung auftrat. 1 g Fructose pro kg bewirkte eine starke Steigerung (bis 2,67 pro mille z. B.), die nach einer Stunde noch fortbestand. 1 g Galaktose erzeugte eine geringere Steigerung.

Wiederholte er nun dieselben Versuche mit Zusatz von Pankreasextrakt zur injizierten Lösung, so war die Erhöhung des Amylosegehalts im Mittel jetzt bei Glucose viel grösser und der von Fructose hervorgerufenen nahezu gleich; letztere wurde vom Pankreasextraktzusatz nicht nennenswert beeinflusst.

An anderer Stelle nennt Pavy (433, S. 211) als normalen „Amylose“gehalt des Blutes (0,8—) 1,00 (—1,30) pro mille. Der Ernährungszustand schien im peripheren Blut darauf keinen Einfluss zu haben; im Blute der Vena portae wurden nach kohlenhydratreicher Nahrung Werte von (2,00—) 2,50 (—2,70) pro mille festgestellt (433, S. 211).

Schöndorff (482) fand bei normalen Hunden ausser der Digestion nur wenige Milligramme „Glykogen“ pro Liter Blut, de Filippi (193) hingegen bei Hunden mit Eckscher Fistel nach einer kohlenhydratreichen Mahlzeit grosse Mengen. Auch bei normalen Hunden in Morphinnarkose

hat der zuletztgenannte Autor solche Bestimmungen ausgeführt, nachdem etwa 2 Stunden zuvor eine kohlenhydratreiche Mahlzeit gereicht worden war. Das Blut wurde direkt aus dem Gefäß in einer genügenden Menge 60%iger Kalilauge aufgefangen und sofort in das kochende Wasserbad gebracht. Berechnet als Glucose enthielten 100 g Blut:

Aus der V. portae . . . . .	98,04 mg „Glykogen“
„ „ Carotis . . . . .	62,90 „ „
„ „ V. cava abdom. . . . .	38,85 „ „

Später hat Polimanti (444) den Versuch unter genau denselben äusseren Umständen wiederholt mit vollkommen gleichem Ergebnis:

Aus der V. portae . . . . .	96,75 mg „Glykogen“
„ „ Carotis . . . . .	58,21 „ „
„ „ V. cava abdom. . . . .	34,25 „ „

Als letzter hat vor kurzem Ohara (422) bei Kaninchen einige Untersuchungen angestellt. Wichtig ist die von ihm festgestellte Tatsache, dass der nach Pflüger bestimmte „Glykogengehalt“ in der V. cava inf. beträchtlich steigt nach Adrenalininjektion, und ebenso nach Zuckerstich. Seines Erachtens wird offenbar ein Teil des Leberglykogens als solches ins Blut gebracht und geht dort erst allmählich in Glucose über.

Auf den „Befund“ Virtanens (527), dass das Blutglykogen in den ersten Stunden nach Insulininjektion unverändert bleibe, um erst nach 5 bis 6 Stunden stark abzusinken, brauchen wir nicht weiter einzugehen. Denn die verwandte Methodik (Enteiweissung mittels Trichloressigsäure und Schätzung der Intensität der Trübung des Filtrates) ist zu diesen Zwecken vollkommen unzureichend; sie wurde in unserem Laboratorium ausgearbeitet zum Zweck, einem bestimmten Blutmuster zugesetztes Glykogen schätzungsweise wiederfinden zu können, ist aber vollkommen unbrauchbar, um den Glykogengehalt verschiedener Blutmuster zu bestimmen. Man wird also die Bestätigung der Virtanenschen Befunde mit besserer Methodik abwarten müssen.

Die Hy-S im ganzen ist gewiss nicht mit Glykogen identisch; das geht unter anderem auch hervor aus den Versuchen von Condorelli (125, 126), die zeigten, dass Ptyalin nicht imstande ist, die Hy-S in reduzierende Komponenten zu spalten.

Eine Substanz von zweifelhafter Identität, die vielleicht wohl, vielleicht auch nicht in diese Rubrik gehört, ist das sog. „tierische Gummi“. Ursprünglich hergestellt von Landwehr (302) aus Submaxillarisdrüsen und Ovarialcysten zeigt sie einige Eigenschaften, die uns interessieren müssen.

Denn es entstand daraus bei saurer Hydrolyse ein reduzierendes Produkt, das schwach süßlich-bitter schmeckte und nicht vergor, dennoch in wässriger Lösung schnell verdarb. Die nichthydrolysierte Substanz soll ein hellweisses hygroskopisches Pulver gewesen sein, das zu

einem Gelee zerfloss, geschmack- und geruchlos war, in Wasser stark schäumte, in Alkohol und Äther unlöslich war und sich mit Jod nicht färbte. Mit alkalischer Kupferlösung gab es eine hellblaue Lösung, woraus sich beim Kochen kein Kupferoxydul, sondern blauweisse Flocken absetzten. Die Substanz war unvergärbbar, und wurde von Speichel, Diastase, Pankreas- oder Leberferment nicht angegriffen. Beim Zusammenreiben mit starker  $\text{HNO}_3$  löste sie sich ohne Braunfärbung auf; auf Zusatz von Wasser schlug ein nichtexplosives Nitrat von der Zusammensetzung  $\text{C}_{12}\text{H}_{18}(\text{NO}_2)_2\text{O}_{10}$  nieder, das sich in kochendem absoluten Alkohol löste und sich beim Abkühlen daraus wieder abschied. Beim Erwärmen mit verdünnter Salpetersäure bildete sich Oxalsäure, keine Zuckersäure. Als chemische Zusammensetzung wird die Formel  $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$  (+ 2  $\text{H}_2\text{O}$ , beim Trocknen über Schwefelsäure) angegeben.

Eine Substanz mit ziemlich genau übereinstimmenden Eigenschaften hat einige Jahre später Freund (215) aus Blut herstellen können, zuerst bei Kranken, nachher auch bei Gesunden.

Mit Zinkcarbonat enteiweisstes Blut wurde eingengt; dann wurde die in Rede stehende Substanz mit  $\text{NaOH}$  und  $\text{CuSO}_4$  gefällt, der Niederschlag gesammelt, gut gewaschen, mit Hilfe von etwas  $\text{HCl}$  gelöst, so lange mit Ammoniak versetzt als der sich bildende Niederschlag von Kupferoxydhydrat sich beim Rühren noch löste, und dann mit dem dreifachen Volumen 95%igem Alkohol aufs Neue gefällt, und auf  $60^\circ$  erwärmt. Dabei schlug das „tierische Gummi“ nieder, ohne dass Kupfer oder  $\text{NH}_4\text{Cl}$  in den Niederschlag übergingen, wenigstens wenn man vorsichtig arbeitete. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit Alkohol gewaschen, in wenig schwach mit  $\text{HCl}$  angesäuertem Wasser gelöst, nochmals mit Alkohol gefällt, abfiltriert, mit Alkohol und Äther gewaschen, getrocknet, gewogen. Aus 4 l Blut wurde so eine Ausbeute von 820 mg erhalten, mit einem Aschengehalt von 2,4%. Es war ein gelblichweisses Pulver, das sich in Wasser löste zu einer nichtpalescierenden, stark schäumenden Flüssigkeit, die beim Eintrocknen zu einer gummiartigen, harten, sich schwer in Wasser lösenden Masse wurde. Nach Kochen mit verdünnter Säure schäumte die Lösung nicht mehr und war dünnflüssiger geworden; war wenigstens während einer halben Stunde gekocht worden, so trat deutlich ein träges Reduktionsvermögen für Fehlingsche Lösung zutage. Weder vor noch nach Hydrolyse war die Substanz vergärbbar. Eine 0,5%ige Lösung war optisch inaktiv. Die Substanz war N-frei und zeigte die Elementarzusammensetzung  $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$ . Daher betrachtete Freund seine Substanz als nahezu identisch mit Landwehrs „tierischem Gummi“. Aus normalem Menschenblut wurde, auf Gewicht berechnet, eine Ausbeute von 0,15—0,17 pro mille erhalten.

Auch Best (29c) gelangte bei seiner Untersuchung der Kohlenhydrate des Blutes zu einer ähnlichen Substanz.

Er befreite Rinderblut zunächst durch Kochen mit Natriumsulfat und Salzsäure, dann mittels Phosphorwolframsäure vom Eiweiss, entfernte die Phosphate, setzte pro 100 ccm 48 ccm 10%iges  $\text{NaOH}$  und 4 ccm Benzoylchlorid zu; schüttelte während einer Stunde unter Abkühlung, filtrierte den gebildeten Ester auf Saugfilter durch gehärtetes Papier ab, wusch ihn mit Wasser bis dies neutral reagierte und trocknete im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure. Dann wurde der Ester sorgfältig pulverisiert und mit Natriumäthylat bei  $-5^\circ$  verseift; nach Behandlung mit verdünnter Schwefelsäure, Äther und  $2\frac{1}{2}$  Vol. 92%igem Alkohol wurde eine Lösung erhalten, die rechtsdrehend war und neben Salzen die Kohlenhydrate des Blutes enthielt.

Diese Lösung wurde eingengt und mit dem neunfachen Volumen 92%igen Alkohols versetzt: dabei wurde eine weissflockige, aus Salzen und Polysacchariden bestehende Masse ausgefällt, die durch wiederholtes Lösen in Wasser und Fällen mittels Alkohol gereinigt, und schliesslich, mit absolutem Alkohol und Äther gewaschen, in vacuo getrocknet wurde. So wurde ein nahezu weisses hygroskopisches Pulver erhalten, das sich laut der negativen Lassaigne-Probe ganz stickstofffrei zeigte, mit Jod aber auch keine Glykogenreaktion gab. Die Substanz hatte kein reduzierendes Vermögen: nachdem sie aber etwa eine halbe Stunde mit 1%igem  $\text{HCl}$  im kochenden Wasserbade erhitzt worden war, reduzierte sie Fehlingsche und Benedictsche Lösung deutlich. Die klare wässrige Lösung der Substanz war blassgelb; auf Zusatz von  $\text{NaOH}$

und  $\text{CuSO}_4$  entstand ein blassblauer flockiger Niederschlag, dessen Farbe sich beim Kochen nicht änderte.

Auf Grund dieser Eigenschaften, zusammen mit der Tatsache, dass die saure Hydrolyse so träge vonstatten ging, betrachtete Best das in Rede stehende Blutpolysaccharid gleichfalls als ein Gummi. Ob daneben noch Dextrine im Blute vorkommen, konnte er in dieser Weise nicht feststellen, da diese schon von der Phosphorwolframsäure mitgerissen sein mussten.

Folin (201) hat Landwehrs Arbeit keine Kritik erspart; nach ihm enthält sie zahlreiche grobe Fehler. Und, das Wichtigste: er hat die Versuche wiederholt und niemals eine stickstofffreie Substanz erhalten. Im Lichte der neueren Forschungen hat vielleicht Landwehr eine Chitosaminverbindung in Händen gehabt. Damit fällt dann die Idee des „tierischen Gummis“. Aber die tatsächlichen Befunde Freunds behalten ihren Wert, und man betrachte in diesem Zusammenhang auch noch folgenden Anhang.

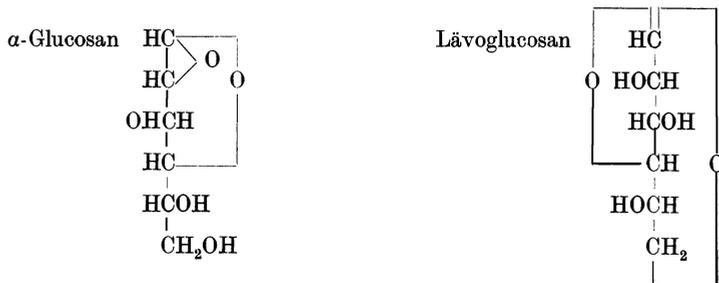
### Anhang: Zuckeranhydride.

Obwohl diese Substanzen bisher noch niemals im tierischen Körper identifiziert worden sind, müssen wir sie doch mit einigen wenigen Worten besprechen.

Sowohl Glucose als Fructose verlieren bei einer Temperatur von  $170^\circ$  Wasser und gehen über in Substanzen von der Zusammensetzung  $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$ , Glucosan und Lävulosan. Kocht man diese mit einer verdünnten Mineralsäure, so werden sie wieder zu Glucose bzw. Fructose [Pavy (433, S. 17 u. 22)]. Auch dies könnte also noch zur Erklärung der Zunahme des Reduktionsvermögens bei saurer Hydrolyse von Blut in Frage kommen, so lange wenigstens das Vorkommen derartiger Substanzen im Körper nicht definitiv ausgeschlossen ist. Dass der Körper ihnen jedenfalls nicht fremd gegenüber steht, hat sich wohl bei den Diabetes- und Insulinforschungen der letzten Jahre gezeigt. [S. z. B. Nonnenbruch (420).] Beide sind in reinem Zustande weisse Krystallpulver von süsslich-bitterem Geschmack. Am besten geben wir erst einige ihrer chemischen Charakteristika (420).

	Drehung	Schmelzpunkt	Krystalle	Löslich in	Unlöslich in	Reduktion
$\alpha$ -Glucosan .	$[\alpha]_D^{20} = +66,5^0$ (rechts) $+69,4(236)$	108—109 <sup>0</sup>	Farblose Plättchen	Wasser (leicht), Methylalkohol, Äthylalkohol.	Andere organische Lösungsmittel	+ ; vergärt: nicht (420) glatt (236)
Lävoglucosan .	$[\alpha]_D^{20} = -67,4^0$ (links)	180 <sup>0</sup>	Grosse farblose Krystalle	Wasser Alkohol Aceton	Äther Chloroform Benzol	— NachHydrolyse mit Säure + Vergärt nicht.
Saccharosan	(rechts)	94—95 <sup>0</sup>	Hygroskop. farbloses oder gelbes Pulver	Wasser, Methylalkohol, Pyridin, warmen Äthylalkohol	Aceton Äther Chloroform Benzol	+

$\alpha$ -Glucosan hat die Formel  $C_6H_{10}O_5$ , Lävoglucosan gleichfalls  $C_6H_{10}O_5$ , Saccharosan  $C_{12}H_{20}O_{10}$ , genau dieselben also wie wir sie soeben beim „tierischen Gummi“ erwähnten.



$\alpha$ -Glucosan reduziert Fehlingsche Lösung schon bei 40–50°. In Gottschalks Versuchen vergor es glatt mit allerhand Hefepräparaten, im Anfang sogar noch besser als Glucose. (Wie aus obenstehender Tabelle ersichtlich hatte Nonnenbruch die Vergärbarkeit verneint.) Es entstanden dabei auch hier als Zwischenprodukt Zuckerphosphorsäureester. Lävoglucosan hingegen vergor nicht und bildete auch keine Phosphorsäureester.

Das Polymere von  $\alpha$ -Glucosan, Tetraglucosan, vergor ebensowenig: das soll darauf beruhen, dass die Fermente der Hefe nicht imstande seien, die hier anwesenden glucosidischen Bindungen zu lösen.

## X. Kondensation von Hexosen mit Fetten und Fettderivaten.

Bei der allgemeinen Durchmusterung all der Substanzen, die möglicherweise für die Zunahme des reduzierenden Vermögens durch saure Hydrolyse von Blut und Geweben in Betracht kommen könnten, müssen wir ausser an polymere Kohlenhydrate und „Eiweisszucker“ auch an etwaige Zwischenglieder zwischen Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel denken. Dass diese beiden eng zusammenhängen, weiss man aus tausendfacher Erfahrung; wie dieser Zusammenhang zustandekommt, darüber hat man bis jetzt nur sehr unvollkommene Vorstellungen. Unmittelbare Übergangsformen, d. h. Kohlenhydratester von Fettsäuren, kennt man zwar schon längst, aber ihre etwaige physiologische Bedeutung ist noch kaum erforscht worden. Einige davon hat Bloor (78) synthetisch hergestellt (stearinsäuren bzw. laurinsäuren Mannit); es stellte sich heraus, dass der lebende Tierkörper sie tatsächlich ziemlich gut assimiliert, aber doch haftete ihnen noch zu stark das Unnatürliche an.

Es war schon längst bekannt, dass der Organismus ausser „gebundenen Zucker“ (d. h. nach Hydrolyse mit Säure ein reduzierendes Produkt liefernde Substanzen) auch „gebundenes Fett“ (gleichfalls im weitesten Sinne: erst nach Hydrolyse in Äther lösliche fettartige Substanzen) enthält [s. z. B. Leathes und Raper (321)]. Die meisten Zellen sollen die Fettsäuren hauptsächlich als Phospholipine enthalten; in dieser gebundenen Form machen sie also noch einen viel grösseren Prozentsatz der Zellmasse aus, als sonst der Fall wäre. Dabei ist für jedes Organ, nur mit Ausnahme der Leber, die darin enthaltene Fettsäuremenge ziemlich konstant: nur bei der Milz ist sie, ebenso wie der Gehalt an „gebundenen Zucker“, immer niedrig, um 2%.

Blutserum enthält 3—4 mal soviel Fettsäuren als freien Zucker (321, S. 202).

Bei all solchen Versuchen muss man sich aber fragen, inwieweit es erlaubt ist, „ätherlösliche Substanz“ und „Fett“ zu identifizieren, und welche Fettsäuren eigentlich zugegen sind. Nach den später zu besprechenden Versuchen von Mansfeld (376) aber machen die unverseifbaren Substanzen nur wenige Prozent der gesamten ätherlöslichen Substanz aus.

Jedenfalls ist es möglich, dass „gebundenes Fett“ und „gebundener Zucker“ wenigstens zum Teil aneinander gebunden sind, und diese Möglichkeit müssen wir im Auge behalten, um so mehr, wo verschiedene schon bekannte, von irgendeinem physiologischen oder chemischen Agens hervorgerufene Änderungen in Fettgehalt und Fettverteilung innerhalb des Organismus begleitet werden von Änderungen im Kohlenhydratgehalt und -verteilung, die sich ganz gut in dieser Weise erklären liessen. Dazu vergleiche man dieses Kapitel mit dem späteren betreffs der „pathologischen und experimentellen Variationen des Hy-S-Gehalts“.

Die genannte Bindung könnte dann entweder direkt oder indirekt, d. h. durch Vermittlung anderer Atomgruppen, stattfinden. Physiologisch wichtige Substanzen der ersten Reihe sind, wie gesagt, bisher kaum bekannt, solche der zweiten aber kennen wir besser: mit Sicherheit als Galaktolipine, mit Wahrscheinlichkeit als Jecorine. Es genügt hier ein Hinweis auf das diesbezügliche Kapitel.

Schliesslich könnte man sich auch denken, dass das Verbindungsglied zwischen den beiden Gebieten des Stoffwechsels bei noch einfacheren Atomgruppen liege, sei es, dass Fett und Kohlenhydrate aus denselben Bausteinen aufgebaut werden, sei es, dass z. B. Zucker sich mit den Bausteinen des Fettes verbindet. Dieser Gedanke führte Laqueur und mich vor einiger Zeit dazu (237), die Acetonglucose als Prototyp derartiger Verbindungen zu betrachten, in Anbetracht des oft auffällig parallelen Verschwindens sowohl der überflüssigen Glucose als der Ketostoffe aus dem Blute des acidotischen Diabetikers nach Insulinbehandlung. Neu war darin nur die Auffassung, dass Insulin dies bewirke; die mögliche Bedeutung der Aceton-Glucose-Verbindungen hatten schon viele Jahre früher Geelmuyden, Shaffer u. a. eingesehen. Übrigens wollen wir hier schon sofort erwähnen, dass die auf Grund dieser Voraussetzung in unserem Laboratorium unternommenen Versuche von Martens (378), bei denen isolierte überlebende Organe durchströmt wurden mit Blut, dem Di- oder Monoacetonglucose bzw. ein Gemisch von Aceton und Glucose zugesetzt waren, unserer Meinung keine experimentelle Stütze haben geben können. Doch hatte es sich in Versuchen von Dingemanse (s. Martens l. c.) gezeigt, dass der intakte Kaninchenkörper wohl imstande ist, Acetonglucose wenigstens zum Teil zu verwerten. Weitere Experimente werden wohl zeigen, ob tatsächlich die Substanz doch noch von physiologischer

Bedeutung ist. Vielleicht auch muss man die Erklärung der genannten negativen Ergebnisse auch in der Richtung suchen, dass bei den von Martens verwendeten isolierten Organen ein regulatorischer Einfluss des Zentralnervensystems fortfällt, der unter anderem auch aus Wertheimers Versuchen ersichtlich scheint (533). Möglicherweise war es auch nicht zweckmässig, als intermediäres Produkt das Aceton zu wählen, das schon so dicht bei den (pathologischen?) Endprodukten des Fettstoffwechsels steht.

Jedenfalls scheint wohl fest zu stehen, dass das Zentralnervensystem sowohl direkt, auf dem Wege der peripheren Nervenbahnen, als indirekt, durch Vermittlung der Hormonsekretion, einen beherrschenden Einfluss auf den Kohlenhydrat-Fettstoffwechsel im allgemeinen hat. Einen Hinweis auf das erste bilden, wie gesagt, die Versuche und Ergebnisse Wertheimers (l. c.): Er sah bei Hunden nach akuter oder subakuter Phlorhizinvergiftung, die bekanntlich auch den Kohlenhydratstoffwechsel in charakteristischer Weise beeinflusst, die Fettleber nur dann zustandekommen, wenn das Rückenmark intakt oder unterhalb Th. VII durchschnitten war; wurde hingegen der Schnitt irgendwo zwischen Th. I und VII gelegt, so trat keine Fettleber und keine Lipämie mehr auf, ausgenommen wenn man dann noch alle Lebernerven durchschnitten hatte. Gleichzeitig mit dem Unvermögen zur Verfettung beobachtete er nach hoher Brustmarkdurchschneidung auch eine ausserordentlich starke Erniedrigung der Acetonkörperbildung. —

Die am meisten studierten pharmakologischen Agenzien, die eine deutliche Änderung in den Fettverhältnissen des Körpers bewirken, sind wohl: Phosphor, Chloroform, Phlorhizin (Lebergifte also), Thyroidektomie [Mavrakis (382)]; auf pathologischem Gebiet sind dies: Lebererkrankungen im allgemeinen und Diabetes. Chronische Alkoholvergiftung schien wenig Einfluss zu haben [Baskoff (22)].

Das bekannteste Ergebnis der Einwirkung all dieser Agenzien ist wohl die Leberverfettung, und das merkwürdige ist, dass man diese sowohl bei normalen als bei pankreaslosen Tieren auftreten sehen kann [Lombroso (357)]. Auch lokal kann man in Organen Verfettung verursachen dadurch, dass man die Gefässe abbindet und dann in das Organ Phosphor oder Diphtherie- bzw. Typhustoxin einspritzt [Mavrakis (382)]. Dieselben Agenzien, die eine Fettleber entstehen lassen, findet man auch erwähnt als Erzeuger einer Erhöhung des Fettgehalts im Blute. So vor allem Phlorhizin (Lattes, Terroine), auch Phosphor (Lattes); von Erkrankungen wiederum die der Leber: bei akuter gelber Leberatrophie steigt das Blutfett nach Feigl bisweilen bis zum 5—6fachen des normalen Wertes (Alles zit. nach 321, S. 157). Man vergleiche dies alles mit den in den letzten Kapiteln besprochenen Änderungen der Hy-S unter Einfluss derselben Agenzien.

Seinerzeit fand Mansfeld (376) sowohl im Blut wie in Organen ausser

dem direkt in Äther löslichen Fett auch das schon erwähnte „gebundene Fett“, so dass nach Hydrolyse (mit Lauge) viel mehr Fettsäure extrahiert werden konnte als vorher. Die Zunahme betrug bei Kaninchen sowohl im Blut wie in der Leber nicht weniger als etwa 100%. Bei Phosphorvergiftung sah er das freie Fett sofort stark zunehmen, während bei länger dauernder Verabreichung nach einigen Tagen auch das gebundene Leberfett stark anstieg. (Dies kann man als eine Bestätigung betrachten der sofort zu besprechenden gleichen Befunde betreffs der „Jecorin“zunahme bei Phosphorvergiftung.) In den späteren Stadien der Vergiftung war die ätherlösliche Substanz kein neutrales Fett mehr, sondern freie Fettsäure. Die gesamte Menge Blutfett blieb nahezu unverändert, nur fing auch hier allmählich das ätherlösliche freie Fett immer mehr an zu überwiegen gegenüber des gebundenen. Und was den Zusammenhang mit dem Verhalten der Kohlenhydrate unter diesen Umständen betrifft: nach den Versuchen von Frank und Isaac (212) verschwindet bei Kaninchen bei Phosphorvergiftung das Leberglykogen innerhalb einiger Stunden, aber der freie Blutzucker bleibt unverändert, während Milchsäure im Harn erscheint. Erst kurz vor dem Tode, 3—4 Tage nach Verabreichung von Gaben von 10 mg pro kg, war der Blutzucker auf 0 gesunken.

Mohr (396) konnte dies alles der Hauptsache nach bestätigen, und zwar mit einer wichtigen Ergänzung: er bestimmte nicht nur das Glykogen, sondern auch das Gesamtkohlenhydrat in ganzen Ratten, entweder mit P vergifteter Tiere oder normaler Kontrollen. Zur Bestimmung des Gesamtzuckers wurden die Tiere in toto zerkleinert, der Brei 10—12 mal mit Wasser ausgekocht, das Dekokt filtriert und eingeengt, enteiwisst mit 2%iger Essigsäure, das eiweissfreie Filtrat mit HCl hydrolysiert und im Hydrolysat das reduzierende Vermögen bestimmt. Das Ergebnis dieser Versuche war, dass sowohl der Glykogengehalt als der Gesamtkohlenhydratgehalt stark erniedrigt waren, und zwar in den Lebern noch stärker als im übrigen Körper; daneben waren meistens die Lebern stark verfettet. Beide Gruppen hungerten nach der Verabreichung des Giftes gleich lange. Sonst sei auch hier wieder auf die letzten Kapitel verwiesen.

Fett und Glykogen scheinen also schnell ineinander übergehen zu können: Wertheimer (534) glaubte zeigen zu können, dass im intestinalen Fettgewebe Glykogen an Ort und Stelle sich in Fett umsetzen kann. Darauf weist auch vielleicht die von Arndt in bestimmten Fällen mittels histologischer Methoden festgestellte Anhäufung von Glykogen in Fettgewebe hin (6), wenn auch dieser Befund an sich nichts aussagt über das chemische Geschehen.

Teils nervös, teils hormonal muss man den Einfluss ansehen, den die Hypophyse auf den Fett-Kohlenhydratstoffwechsel ausübt. Abgesehen von den bekannten klinischen Erfahrungen betreffs des Zusammengehens von Abweichungen dieses Organes mit denen des genannten Gebietes des Stoff-

wechsels, ist auch schon eine ganze Menge von experimentellen Untersuchungen auf diesem Gebiete unternommen worden, insbesondere auch mit Einspritzung von Hypophysenpräparaten, speziell solcher des Hinterlappens, wie z. B. Pituitrin. Wir nennen an erster Stelle die Forschungen von Coope und Chamberlain (141, 142), nach denen Pituitrin bei normalen Kaninchen und Ratten die Fettsäuremenge in der Leber vorübergehend deutlich steigert: 10—15 Stunden nach der Injektion wird das Maximum erreicht, während nach 30 Stunden alles schon wieder vorüber sein soll. Dabei vertragen die Kaninchen (die einen an sich sehr konstanten Leberfettgehalt aufweisen sollen) Gaben von 3 oder 4 ccm anstandslos, auch bei wiederholter Verabreichung, besonders wenn zusammen mit warmer Gummilösung eingespritzt. Die spontane Erholung zeigt, dass die Leberzellen nicht bleibend vergiftet werden, und es tritt ebenso wenig eine Hyperglykämie oder Glykosurie auf. Schon 4 Stunden nach der Injektion ist die Fettleber vollentwickelt. Daneben ist bekannt, dass Pituitrin die Blutmilchsäure steil senkt [Collazo und Supniewski (124)], ebenso wie die Hy-S des Blutes (s. S. 220).

Insulin, gleichzeitig mit dem Pituitrin, aber an einer anderen Körperstelle, eingespritzt, beugt nach Coope c. s. (l. c.) der Leberverfettung je nach der Dosierung mehr oder weniger vollkommen vor. Hier erscheint also ein ähnlicher Antagonismus Insulin-Pituitrin wie auch für den freien Blutzucker [s. u. a. Lawrence und Hewlett (319)] und für die Hy-S (s. S. 223) gilt, wenn auch Pituitrin allein in Gaben von 1 ccm beim normalen Menschen kaum den freien Blutzucker beeinflusst, beim Diabetiker gar nicht. Merkwürdig ist, dass die beängstigenden Vergiftungssymptome beim Menschen (die Versuchspersonen werden 10—30' nach der Injektion von 1 ccm leichenblass, schwindelig, flau und zittrig, obwohl sie sich sonst nicht krank fühlen, guten Puls und Blutdruck behalten und ohne weiteres nach einer Stunde sich erholen) wohl vorkommen bei Gesunden und bei Fällen von Diabetes insipidus, aber nicht bei echten Diabetikern und Graviden, also bei Personen mit geänderten Kohlenhydratstoffwechsel und -toleranz.

Auch in anderen Hinsichten ist die Arbeit von Coope c. s. für das uns hier interessierende Gebiet sehr wichtig, um so mehr als sie auch mit pharmakologischer Technik den Einfluss des Nervensystems auf den Insulin-Pituitrin-Antagonismus für den Blutzucker zeigen konnten. Es ist darum sehr zu bedauern, dass die Arbeiten von anderen Forschern, z. B. van Dyke (161), das Ergebnis wieder in Frage gestellt haben. Doch konnte auch Raab (451) bestätigen, dass Pituitrin das freie Leberfett stark, bisweilen um 100%, ansteigen lässt, während das Blutfett absinkt; nach 24 Stunden waren auch hier wieder die Ausgangswerte erreicht. Gleichfalls konnte er in seinen (leider wenigen!) Versuchen bestätigen, dass Insulin diesen Pituitrineffekt deutlich abschwächt.

Nach den Versuchen Wertheimers (533) verhindert Insulin gleich-

falls das Zustandekommen der Fettleber bei Phlorhizinvergiftung von Hunden. Ausser den schon erwähnten konnte der genannte Autor noch viel mehr Hinweise auf einen direkten Zusammenhang zwischen Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel entdecken. Darauf können wir hier nicht näher eingehen.

In späteren Versuchen beobachtete er, dass Hunde mit nahezu glykogenfreier Fettleber gegen Insulin weniger empfindlich sind als normale. Man vergleiche damit die Befunde von Blum, später von Roubitschek (472) bestätigt, dass kohlenhydratfrei gemachte Tiere nach Öleingabe auf Adrenalin-Einspritzung wieder mit Glykosurie zu reagieren vermögen, dabei bisweilen auch mit dem Harn eine reduzierende linksdrehende Substanz ausscheiden, die kein Osazon liefert und auch mit Ferrichlorid keine Verfärbung zeigt. In beiden Fällen scheint also das Fett die komplexen Kohlenhydrate wenigstens zum Teil ersetzen zu können, von der Möglichkeit abgesehen, dass beide ein gemeinschaftliches Vorstadium besitzen.

Neben diesen Befunden stehen die von Raper und Smith (457), nach denen Insulin bei hypophysenlosen dezerebrierten Katzen nur dann Hypoglykämie erzeugt, wenn die Glykogenreserven gering sind; dabei verschwindet Fett aus der Leber, aber Muskel- und Blutfett steigen. Dies alles geschieht aber nur, wenn der Blutzucker unterhalb 1 pro mille gesunken ist; bei normalen Tieren verursache Insulin im Gegenteil gerade eine starke Senkung des Blutfettes [Arnoldi und Collazo (7)]. Dies veranlasste diese Autoren, einen Zusammenhang mit der von diesem Hormon hervorgerufenen bekannten Blutzuckererniedrigung zu suchen; sie schliessen, dass auch das Insulin auf den Fett  $\rightleftharpoons$  Kohlenhydratstoffwechsel wirke. Leider sind ihre Versuche an Zahl zu gering, um hierfür einen durchschlagenden Beweis zu liefern. Aber ein zweiter Hinweis in gleicher Richtung ist doch die bekannte Tatsache, dass beim Diabetiker Insulin sowohl den Blutzucker erniedrigt als die Lipämie zum Verschwinden bringt.

[In diesem Zusammenhange sei an eine Äusserung von Shaw-Mackenzie erinnert (488), nach der nach seinen Erfahrungen auch beim Carcinom der Fettstoffwechsel gestört sei, wie aus dem erniedrigten lipolytischen Vermögen der Zellen hervorgeht. Darum empfiehlt er, jede Substanz, geeignet, die Umsetzungen des Fettes in irgendeiner Weise zu beeinflussen, in Betracht zu ziehen für eine etwaige Therapie des Carcinoms. Zwar scheint man hierbei nach den bisher gewonnenen Erfahrungen vom Insulin an sich nicht viel erwarten zu dürfen, aber die Idee ist der Erwähnung wert, mit im Zusammenhang mit dem, was wir nachher hierzu noch berichten werden. Nur erinnern wir an dieser Stelle nochmals daran, dass beim Carcinompatienten auch charakteristische Änderungen des Kohlenhydratstoffwechsels bestehen, wie erhöhte Milchsäureproduktion (Warburg) und Erhöhung der Blut-Hy-S (s. S. 200); während, wie soeben gesagt, im Experiment Pituitrin sowohl die Blutmilchsäure als die Blut-Hy-S absinken lässt. Später kommen wir darauf nochmals zurück.

Wenn Kaninchen oder Meerschweinchen einige Tage gehungert haben, steigt die Menge der Fette bzw. Fettsäuren in der Leber bisweilen bis zum Zwei- oder Dreifachen des normalen Wertes [Mottram (zit. nach 321, S. 99)]. Auch hier vermehrt sich die ätherlösliche Fraktion auf Kosten des gebundenen

Fettes, sei es auch nicht so stark wie bei Phosphorvergiftung; die Gesamtmenge wird aber nur mässig erhöht. Bei Hunden blieb beim Hungern die Gesamtfettmenge des Blutes nahezu unverändert, aber auch in diesem Falle war nach zehntägigem Fasten nahezu alles gebundene Fett daraus verschwunden und ätherlöslich geworden [Mansfeld (376)]. Derselbe Autor machte noch die bemerkenswerte Beobachtung, dass während der Schwangerschaft weder das freie noch das gebundene Blut Fett nennenswerte Änderungen zeigt; sobald aber die Lactation anfängt, steigt das freie ätherlösliche Fett im Verhältnis zum gebundenen sehr stark an, um nach Aufhören der Milchsekretion wieder zur Norm zurückzukehren.

Für eine allgemeine Übersicht über alles, was schon über den Zusammenhang in vivo zwischen Fett- und Kohlenhydratstoffwechsel gefunden und behauptet worden ist, möge übrigens auf die schon erwähnte ausgezeichnete Monographie von Leathes und Raper (321) verwiesen werden; uns würde dies zu weit führen. Nur wollen wir noch an deren Erwähnung erinnern, dass in den empirischen Formeln von Glucose ( $C_6H_{12}O_6$ ) und von Stearinsäure ( $C_{18}H_{36}O_2$ ) C und H im gleichen Verhältnis vorkommen; nur ist die Fettsäure viel sauerstoffärmer (l. c. S. 177).

Laufberger (315) glaubt, im normalen Organismus halte der normale Insulingehalt die Kohlenhydratbildung aus Fett in Schranken; falle aber diese Hemmung fort, wie beim Diabetes, so werde nicht nur zuviel Zucker gebildet, seines Erachtens unter Einfluss des Adrenalins, sondern es werden auch die Abfälle nicht genügend verarbeitet, und die Acetonstoffe erscheinen; beim Hungern, wenn der Körper an seinen Kohlenhydratvorräten zehrt, gelte dasselbe. Oder mit anderen Worten, wenn man die Fett-Zucker-Umsetzungen als Gleichgewichtsreaktion betrachtet: beim Diabetes ist das Vermögen, aus Zucker Fett zu bilden, im allgemeinen verringert; Insulin erhöht es wieder [Arnoldi und Collazo (7)].

Nach Nencki und Hoppe-Seyler (321, S. 110) stelle vielleicht Acetaldehyd das Bindeglied zwischen Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel dar, nach Smedley (321, S. 115) komme Brenztraubensäure in Betracht. Die Zukunft wird wohl die Lösung bringen.

## XI. Kondensation von Hexosen mit Phosphaten, Lactacidogen.

Als Quelle der bei Hydrolyse mit Säure sich abspaltenden reduzierenden Substanzen kommen gewiss auch die Hexosephosphatverbindungen wie Lactacidogen u. dgl. in Betracht, obwohl theoretisch bei einigermaßen kräftiger Hydrolyse der abgespaltene Zucker — und das soll gerade beim Lactacidogen, wie man glaubt, die empfindliche Fructose sein — wenigstens zum Teil zerstört werden könnte [vgl. Bissinger und Lesser (75)]. Es ist

deshalb zu bedauern, dass weitaus die meisten sich hiermit beschäftigenden Untersuchungen unvollständig und für unsere Zwecke unbrauchbar sind dadurch, dass meistens nur der Phosphatgehalt verfolgt wurde, und dass man sich um das andere Spaltprodukt, den Zucker, weiter nicht gekümmert hat. Schlimmer noch ist es, wenn man nur die Ausscheidung von Phosphat mit dem Harn bestimmt hat: diese ist die algebraische Summe so vieler Unbekannten, dass man daraus gar nichts mehr folgern darf als die wirklich beobachtete Tatsache selber, z. B. eine Phosphatretention [vgl. Kurokawa (300)]. Selbst wenn eine Koinzidenz, sogar ein gewisser Parallelismus sich zeigt zwischen dem Verlauf von Blutzuckerkurve einerseits, Blutphosphatkurve andererseits, wie sie unter anderem Harrop und Benedict (253, 254), Blatherwick, Bell und Hill (76, 77) nach Insulinverabreichung beobachteten, darf man dies als nicht mehr als einen schwachen Hinweis betrachten, dass vielleicht unter Einfluss des Insulins Hexosephosphate aufgebaut werden. So meint z. B. Piazza (442), er habe zeigen können, dass tatsächlich die Insulinhypoglykämie und die -hypophosphatämie voneinander ganz unabhängig sind. Sogar wenn es sich bei späteren Untersuchungen herausstellen würde, dass dies unrichtig ist und doch ein Zusammenhang besteht, dann könnten dieselben Erscheinungen noch ebensogut auf den Aufbau von Jecorin oder einem anderen Phospholipin, von Nucleoproteiden oder sogar von Glykogen, hinweisen. Man wird sich sogar einmal überlegen müssen, ob nicht, bei einer Revision der „Jecorin“-lehre nach modernen Gesichtspunkten, die ganze Lactacidogenfrage dabei eingereiht werden muss. Denn in quantitativer Hinsicht scheint letztere dann und wann im Stich zu lassen [Riesser (461)], und auch qualitativ scheint das letzte Wort noch keineswegs gesprochen: vor kurzem war Embden selber noch nicht sicher, dass Muskellactacidogen identisch sei mit Fructosediphosphorsäure, und ob daneben nicht noch eine Hexosemonophosphorsäure vorkomme [Riesser (l. c.)].

In einer allerjüngsten Untersuchung ist nun Embden (174) tatsächlich zur Überzeugung gelangt, dass der unter physiologischen Umständen im Muskel vorkommende Stoff Hexosemonophosphat ist; dies wurde auch isoliert, und zwar, ebensowie das früher schon aus nichtfrischem Muskelpresssaft hergestellte Diphosphat, in Form eines schön krystallisierenden Brucinsalzes. Wurde bisher unter „Lactacidogen“ das Diphosphat verstanden, so will jetzt Embden diesen Namen für das Monophosphat reservieren. Zweifellos wird dies wieder neue Verwirrung schaffen; jedenfalls wird man beim Studieren der Literatur diese Änderung der Bedeutung des schon eingebürgerten Namens im Auge behalten müssen.

Indessen ist durch diese Untersuchung Embdens die schon früher von Brugsch c. s. (91) ausgesprochene Meinung bestätigt worden, dass beim Stoffwechsel des Muskels das Hexosemonophosphat die führende Rolle spiele. Auch Brugsch gelang es, dies zu isolieren: es stellte sich heraus,

dass die Substanz rechtsdrehend war, eine positive Seliwanoff-Reaktion lieferte und ein Osazon bildete, das bei 135—136° schmolz. Er betrachtete es als identisch mit Robisons Hexosemonophosphat aus Hefe.

An anderer Stelle (94) spricht Brugsch von einem linksdrehenden Hexosephosphat, das sich in vitro, bei Einwirkung frischen Meerschweinchenmuskels auf ein Phosphat-Glucose-Gemisch bilde. Dieses Produkt fälle mit Bleiacetat und sei dann mit H<sub>2</sub>S wieder in Freiheit zu setzen. Die Bildung dieser Substanz, die er „Myophosphat“ nannte, betrachtet er auch als die Ursache der optischen Erscheinungen, die Lundsgaard und Holboell auf Rechnung ihrer Neoglucose schrieben. Nicht nur Muskel, sondern auch Leber und Niere sollten diese Esterbildung bewirken können.

Es würde uns hier zu weit führen, wenn wir hier die Schemata des Kohlenhydratstoffwechsels, wie ihn Brugsch sich denkt, reproduzierten, um so mehr als sie, so suggestiv sie auch seien, wahrscheinlich noch keineswegs definitiv sind. Brugsch' misslungenen Versuch, auch aus frischem Muskel das Hexosephosphat zu isolieren (95) erwähnen wir hier nur der Vollständigkeit halber: er erhielt nur Andeutungen, dass dies ziemlich stark linksdrehend sei.

Was ist vom Vorkommen von Lactacidogen oder ähnlichen Substanzen im Blut bekannt? Mit Gewissheit sehr wenig, weil man gewöhnlich nur die säurelöslichen organischen Phosphate bestimmt hat, und sich um die weiteren Komponenten nicht gekümmert hat.

Eine Ausnahme machen hier nur die auch in anderer Hinsicht äusserst wichtigen Versuche von Robison c. s. Goodwin und Robison (233) enteiweissten Blut mit Trichloressigsäure, neutralisierten das Filtrat, fällten daraus das gebundene Kohlenhydrat mit Bleiacetat und zerlegten die Bleisalze mit H<sub>2</sub>S. Aus der so erhaltenen Lösung wurden zwei Barytsalze von Phosphorsäureester hergestellt, und zwar:

A. (Quantitativ am wichtigsten): Praktisch unlöslich in Wasser, sehr wenig löslich in kalten verdünnten Säuren, löslich in warmer Salzsäure. Reduzierte Fehlingsche Lösung nicht und wurde vom Knochenenzym nicht hydrolysiert.

B. Gut löslich in Wasser, linksdrehend; reduzierte Fehlingsche Lösung. Das Verhältnis: reduzierendes Vermögen (als Glucose berechnet) zu Phosphorgehalt stimmte nahezu überein mit dem für einen Hexosemonophosphorsäureester erforderlichen. An sich betrug aber der P-Gehalt des Salzes nur ein Drittel des für Bariumhexosephosphat berechneten Wertes. Fraktionieren gelang nicht; deshalb glauben sie, dass entweder andere Substanzen, die Salze von nahezu gleicher Löslichkeit liefern, beigemischt sind, oder, dass andere Atomgruppen von beträchtlichem Molekulargewicht mit dem vorausgesetzten Hexosephosphat verbunden sind. Hier könnte man schon an Jecorin oder ähnliche Substanzen denken, denn das Molekulargewicht von Hexosemono-

phosphat beträgt 259, während dasjenige von „Jecorin“ oder Galaktolipinen, als Lecithin bzw. Kephalin plus Glucose bzw. Galaktose betrachtet, etwa 950 sein wird: das Verhältnis ist also nicht weit von dem von den genannten Autoren erwähnten entfernt.

Die Autoren nennen noch einige charakteristische Eigenschaften, auf die wir hier nicht einzugehen brauchen. Bemerkenswert ist nur, dass ein 5%iger Auszug von Rattenknochen imstande ist, innerhalb 6 Stunden bei 38° und  $p_{\text{H}}$  8,4 nicht weniger als 90% dieses Esters zu spalten. Offenbar enthält diese Substanz also (bzw. ist sie identisch mit) den Phosphorsäureester der, vom Knochenenzym angegriffen, am Verknöcherungsprozess teilnimmt. Ob wirklich reduzierende Substanz und Phosphatester identisch sind, lassen sie unentschieden, bis ihre Forschungen auch in dieser Hinsicht vollständig sein werden. Spätere Untersuchungen (381) bestätigten das Vorkommen dieser Ester im Blute; leider haben Maitland und Robison sich aber diesmal darauf beschränkt nur die P-Komponente und nicht das reduzierende Vermögen zu bestimmen.

Auch Lawaczek (317, 318) gelang es, aus Pferdeblut eine wesentlich mit Lactacidogen übereinstimmende Substanz zu isolieren, gleichfalls auf Grund ihrer Unlöslichkeit in Baryt. Wahrscheinlich war sie also mit Robisons Substanz A identisch. In dieser Weise konnte sie vom freien Blutzucker getrennt werden: durch Messung des reduzierenden Vermögens nach Abspaltung des Baryts war sie ohne Hydrolyse quantitativ zu bestimmen. Nach Lawaczek ist aber der Gehalt im Blute sehr niedrig: nur etwa 1% des freien Blutzuckers. Bei Diabetikern sei der Gehalt etwa ebenso hoch wie bei Gesunden; Insulin steigerte die Werte bei normalen Hunden regelmässig (nur war die Grösse der Ausschläge tausendmal kleiner als die der Erniedrigung des Blutzuckers). Adrenalin bewirkte zuerst ein Absinken, dann eine Steigerung.

Neben all diesen positiven Ergebnissen stehen die zweifelhaften von Roche und Roche (462b), die die Anwesenheit von Hexosephosphorsäure im Blute zwar sehr wahrscheinlich machen, aber nicht endgültig beweisen konnten.

Bei seinen Versuchen *in vitro* sah Lawaczek (l. c.) dass, wenn er Blut eine Zeitlang bei einer Temperatur von 37° oder niedriger stehen liess, anfänglich anorganisches Phosphat in organische Bindung überging; nach Erwärmen auf 44—45° war dieses Vermögen zur Synthese verloren gegangen (vgl. Kapitel: Glykolyse). Durchleiten von Luft oder Wasserstoff, sowie Zusatz von Natriumbicarbonat oder Phosphat förderte die Bindung; demgegenüber wurde die Spaltung der organischen Phosphate begünstigt durch Zusatz von NaCl, durch Durchleiten von CO<sub>2</sub> und durch Hämolyse mittels destillierten Wassers. Im letzten Falle wirkten Kalium- oder Natriumsalze noch beschleunigend, Calciumsalze hingegen hemmend. Die gebundenen organischen Phosphate sollen sich in den Erythrocyten anhäufen, sie seien

säurelöslich und haben zum Teil reduzierende Eigenschaften; seines Erachtens sei für letztere eine Hexosephosphorsäureverbindung verantwortlich, von der aber nur der Aufbau, nicht der Abbau beobachtet worden sei.

Was diese letzte Frage betrifft, haben die Untersuchungen von Jost (283) gezeigt, dass dieses Hexosephosphatstadium nur en passant durchlaufen wird, dass aber das säurelösliche organische Phosphat, das in so grosser Menge in den Erythrocyten vorkommt, Diphosphoglycerinsäure ist.

Auch Barrenscheen c. s. (17, 18) bestätigten, dass das säurelösliche organische Phosphat sich fast ausschliesslich in den Erythrocyten vorfindet. Daneben fanden sie noch Anzeichen für die Anwesenheit einer äusserst labilen, schon durch die Säure des Eiweissfällungsmittels zerlegbaren organischen Phosphorverbindung (vgl. *Sucre virtuel* und *Plasmal!*). Und obwohl sie keine Bestimmungen des „gebundenen Zuckers“ durch Hydrolyse ausgeführt haben, zeigte sich doch aus dem Verlauf der Kurve des anorganischen Phosphates, dass nach Verabreichung von Fructose per os das meiste anorganische Phosphat aus dem Blute verschwand, nach Glucose weniger und nach Galaktose weitaus am geringsten; bei Diabetikern war dieser Schwund minimal. Ob Insulin darauf einen Einfluss ausübt, haben sie nicht untersucht; beim Gesunden, dessen Insulinversorgung schon als optimal zu betrachten ist, konnte von Insulininjektion kein Effekt beobachtet werden.

Diese Versuche liefern jedenfalls wiederum einen Hinweis, dass ein Zusammenhang besteht zwischen gebundenem organischen Phosphat, freiem anorganischen Phosphat und Kohlenhydrat; vor allem aber sind sie wichtig für das Verständnis der Begriffe: „Glykolyse“ und „*Sucre virtuel*“, auf die wir bald zurückkommen (S. 141).

All den obigen Arbeiten, die sämtlich die Bindung von freiem zu gebundenem Phosphat betonen, stehen einige andere gegenüber, bei denen besonders das Auseinanderfallen solcher komplexen Verbindungen studiert wurde. So stellten Martland und Robison (380) fest, dass diese organischen Phosphorsäureester, insbesondere wenn Blut mit destilliertem Wasser hämolytisch ist, schon bei Zimmertemperatur ziemlich schnell zerfallen unter Einfluss eines Enzyms und anorganischen Phosphor in Freiheit setzen; bei unverdünntem Blut soll dies viel langsamer verlaufen. György (245) aber meinte, dass auch in unverdünntem Blute der Prozess so schnell verlaufe, dass man sehr schnell arbeiten müsse, um ihn völlig zu beobachten; auch nach seinen Erfahrungen befinde sich der spaltbare Stoff hauptsächlich in den Erythrocyten.

Auch dies alles erinnert stark an das von Lépine beschriebene Zerfallen des „*Sucre virtuel*“, auf das wir sofort zurückkommen. Und tatsächlich haben Martland, Hansman und Robison (379) gefunden, dass allmählich auch das reduzierende Vermögen zunimmt. Dies wurde aber

festgestellt mit der Hagedorn-Jensen-Methode, welche Eiweissabbauprodukte nur unvollständig ausschaltet. Ausserdem trat die Reduktionszunahme bedeutend später auf als die Zunahme des anorganischen Phosphates: allzuviel wird man also auch aus diesen Versuchen nicht schliessen dürfen. Als Möglichkeit äussern sie den Gedanken, dass der „gebundene Zucker“ des Blutes gebunden sei einerseits an Phosphat und andererseits, durch die Aldehyd- oder Ketongruppe, an ein anderes Molekül. Diese Bindungen sollten dann durch verschiedene Enzyme mit verschiedener Geschwindigkeit gelöst werden. Die Autoren geben aber selbst zu, dass hier weitere Untersuchungen nötig sind, bevor die Sache geklärt ist.

Hexosemonophosphat besitze etwa 66%, Hexosediphosphat etwa 33% des reduzierenden Vermögens der damit übereinstimmenden Menge Glucose [Kay und Robison (287)]; es kann also ihre Spaltung zweifellos eine Steigerung des reduzierenden Vermögens zur Folge haben, im Sinne von Lépinés „Sucre virtuel“.

Nach Martland (255) wirke die Phosphoresterase des Blutes hydrolysierend bei einem  $p_H$  unterhalb 7,3, synthetisierend hingegen bei einem  $p_H$  über 7,35.

Den Einfluss des Insulins auf die organischen säurelöslichen Blutphosphate haben schon mehrere Untersucher studiert. Kay und Robison (287) sahen bei direkter Bestimmung die säurelösliche Fraktion des organischen Phosphats zunehmen, ebenso wie dessen durch das Knochenenzym hydrolysierbare Komponente, die bei Hydrolyse mit Säure ein reduzierendes Spaltungsprodukt liefert. Demgegenüber wurde der Gehalt an freiem anorganischem Phosphat stark erniedrigt. Auch nach ihren Analysen soll der Aufbau der organischen Phosphorester der Hauptsache nach in den Erythrocyten erfolgen; sie glauben aber, dass es noch keineswegs feststehe, dass die gebildete Substanz ein einfaches Hexosephosphat sei: ihres Erachtens könnten auch komplexe Verbindungen davon, z. B. Nucleotide, in Frage kommen. Wir werden noch weiter unten sehen, wie diese Vermutungen durch die späteren Forschungen der Embdenschen Schule immer wahrscheinlicher geworden sind. Sie berechneten, dass, wenn jedes Atom der organischen säurelöslichen Phosphate der Erythrocyten mit einem Molekül Zucker verbunden wäre, dies im Blute mit einem „gebundenen Zucker“gehalt von 1,60—2,00 pro mille übereinstimmen würde: einem Wert also, der praktisch vorkommt.

Auch Perlzweig c. s. (440) sahen nach Insulineinspritzung sowohl den freien Blutzucker und das freie anorganische Blutphosphat wie auch die Phosphatausscheidung mit dem Harn absinken. Es gelang ihnen aber nicht, auf dem Höhepunkt der Phosphatretention durch Bestimmung von Reduktion und Phosphatgehalt im Blute vor und nach Hydrolyse mit Säure die Gegenwart von Kohlenhydrat-Phosphatverbindungen in gesteigerter Menge unzweideutig zu zeigen.

Einen wichtigen Fingerzeig findet man noch bei Bolliger und Hartman (81): sie bestätigten, wie sovieler andere Autoren, dass unter Einfluss des Insulins sowohl der freie Blutzucker als das freie Blutphosphat absinken; demgegenüber konnten sie feststellen, dass Pituitrin die Blutphosphate ebenso wie den freien Blutzucker sofort steil ansteigen lässt. Bringt man dies in Zusammenhang mit dem weiter unten noch zu besprechenden Befund Condorellis, dass Pituitrin den Hy-S-Gehalt des Blutes steil erniedrigt, und zweitens mit den Beobachtungen von Coope und Chamberlain, nach denen, wie schon oben erwähnt, lange fortgesetzte Pituitrinverabreichung eine Anhäufung von „Fett“ in der Leber bewirkt, so hat man einige Hinweise, dass vielleicht Pituitrin oder einer seiner Komponenten imstande wäre, die „Jecorin-“ oder Galaktolipin- bzw. Lactacidogenkomplexe *in vivo* zu spalten und so den Hy-S-Gehalt zu erniedrigen: eine Sache, die ein näheres Studium reichlich verdiente, auch vielleicht aus praktisch-therapeutischen Gründen (s. S. 201).

Nochmals auf das Insulin zurückgreifend, müssen wir noch erwähnen, dass Wigglesworth und Woodrow c. s. (535) in einer vorläufigen Mitteilung verneinten, dass unter Einfluss des Pankreashormons eine organische Phosphorverbindung aufgebaut werde, dabei eigens aber die wichtige Beschränkung aussprachen, sie werde vielleicht doch wohl gebildet, aber vom entweissenden Reagens mitgefällt.

Was das Lactacidogen in Organen anbetrifft, so müssen wir davon Abstand nehmen, hier den Inhalt all der wichtigen Arbeiten Embdens und seiner zahlreichen Mitarbeiter wiederzugeben, die im Laufe der Jahre in der Zeitschrift für physiologische Chemie und der Biochemischen Zeitschrift veröffentlicht worden sind. Es sei hier auf die verschiedenen guten Sammelreferate verwiesen [z. B. Laquer (312)], die sich hiermit beschäftigen. Es muss aber hervorgehoben werden, dass fast alle diese Untersuchungen an Muskeln vorgenommen sind, während man anderen, für den Kohlenhydratstoffwechsel gleich wichtigen Organen bisher wenig Aufmerksamkeit geschenkt hat. Darauf hat noch vor kurzem Riesser (461) hingewiesen, besonders mit Hinsicht auf die Leber. Es gelang aber Riesser nicht, bei diesem Organ zu definitiven Ergebnissen zu gelangen: Froschlebern setzten viel mehr Milchsäure in Freiheit als mit der abgespaltenen Menge Phosphat übereinstimmte, Kaninchenleber hingegen zeigte gerade das umgekehrte Verhalten: hier überwog das Phosphat bei weitem.

Cori und Goltz (149) versuchten die Wirkung von Insulin auf den organischen Phosphatgehalt von Mäuselebern zu verfolgen; ihr Ergebnis war aber negativ: die Gesamtmenge blieb unverändert, nur schienen die Komplexe etwas labiler geworden, so dass sie schneller auseinanderfielen.

Brugsch und Horsters (92) haben Kaninchenlebern fein zerrieben

und mit physiologischer Kochsalzlösung oder Ringerlösung extrahiert, dann das Filtrat mit Sublimat-Salzsäure oder Alkohol enteiwesst und in der so erhaltenen Flüssigkeit vor und nach einstündiger Hydrolyse mit 1% HCl quantitative Bestimmungen von anorganischem Phosphat, Milchsäure und Glucose ausgeführt (letztere durch Reduktionsbestimmung nach Folin-Wu und durch Polarisation). Bei normalen, nichthungernden Tieren blieb durch die Hydrolyse der Phosphatgehalt ungeändert, während der Zuckergehalt, der also Glykogen und Hy-S zusammen umfasste, nach dem Polarimeterwert abnahm, nach dem Reduktionswert aber anstieg. Die Autoren schliessen daraus, dass beim normalen nichthungernden Kaninchen die Hydrolyse kein phosphoryliertes Kohlenhydrat spaltet, wohl aber Zuckerpolymere, die teils rechts-, teilweise auch linksdrehende Komponenten bei ihrer Spaltung liefern. Nur in vereinzelten Fällen fanden sie Andeutungen, dass auch in der Leber eine Hexosediphosphorsäure anwesend sei. Bei gut genährten, mit Insulin vorbehandelten Kaninchen war dieses Hexosephosphat zwar in vermehrter Menge zugegen, blieb aber doch quantitativ immer weit hinter den gleichfalls vermehrten phosphorfreien Polysacchariden zurück, die bei Hydrolyse ein linksdrehendes Abbauprodukt lieferten. Nebenbei bemerken sie, dass bei der Hydrolyse die Menge der freien Fettsäure stark zunimmt. Ist das nicht wieder als Fingerzeig in der Richtung der „jecorinartigen“ Substanzen zu betrachten?

In einer späteren Untersuchung haben Brugsch und Horsters (93) an durchströmten isolierten Hundelebern untersucht, wie die Abgabe von anorganischem Phosphat und von linksdrehender Substanz (die sie ohne viel Beweis als d-Fructose betrachten) verläuft. Vor allem bemerkenswert ist ihr Befund, dass, während die glykogenhaltigen Lebern normaler Tiere sowohl rechts- wie linksdrehende Zucker abgaben, die glykogenarme Leber pankreasloser Hunde nur linksdrehenden Zucker (und Phosphat) in Freiheit setzte. Das würde also darauf hindeuten, dass bei pankreaslosen Tieren der Lactacidogenstoffwechsel wenig oder gar nicht gestört ist. Das ist ein Schluss zu dem auch v. Falkenhausen und Hirsch-Kaufmann auf Grund ihrer Bestimmungen des Lactacidogengehalts in Lebern und Muskeln sowohl normaler wie pankreasdiabetischer hungernder Hunde gelangt sind (182). Man vergleiche dies mit den a. a. O. aufgezählten Besonderheiten des Verhaltens pankreasdiabetischer Tiere betreffs Fructoseverabreichung im Unterschied gegenüber denen bei Glucose (s. S. 113).

Bei Lebern thyreoidloser Hunde hingegen war keine Spur von abgespaltenem linksdrehendem Zucker zu finden. Das wäre vielleicht ein Hinweis, dass das Thyreoid für den Stoffwechsel der Fructose und ihrer Derivate (Lactacidogen) eine ähnliche Rolle spiele wie das Pankreas für den der Glucose und ihrer Abkömmlinge (Glykogen). Man vergleiche dies auch einmal mit dem Verhalten solcher Tiere wie es bei der Besprechung der Kohlenhydrat-Fett-Verbindungen geschildert wurde!

Muskel. Normales Vorkommen und normale Funktion des Muskel-lactacidogens werden wir hier nicht ausführlich besprechen; dafür sei auf die schon eingangs erwähnte Originalliteratur verwiesen. Nur einige wenige abweichende Meinungen und experimentelle Variationen seien hier genannt.

Brugsch und Horsters (92) kamen auf Grund ihrer bei der Verarbeitung von — mittels Sublimat enteewissten — wässrigen Muskelextrakten gewonnenen Erfahrungen zum Schluss, dass von den darin vorhandenen Hy-S-Mengen nur ein kleiner Teil als phosphoryliertes Kohlenhydrat zugegen ist, denn bei Hydrolyse mit Salzsäure steigt der Phosphatgehalt nur sehr wenig. Bei weitem der grösste Teil soll aber ein phosphorfrees Polysaccharid sein, das nach Hydrolyse ein linksdrehendes Monosaccharid liefert, denn bei dieser Hydrolyse geht die anfängliche Rechtsdrehung in Linksdrehung über. Es erscheint aber durchaus fraglich, ob man den Zucker ohne näheren Beweis mit d-Fructose identifizieren darf, wie es die genannten Autoren vorläufig tun. Die Tatsachen selbst erinnern stark an die von Bierry und Randoïn (453) an Blut gefundenen.

Hentschel und Zöller (258) haben neuerdings feststellen können, dass bei Rachitiseratten die synthetische Phase des Lactacidogenstoffwechsels im Muskel deutlich geschwächt sei, während die Spaltung normal verlief. Bestrahlung brachte die Verhältnisse bis zur Norm zurück. Äusserst interessant wäre es, mit Hinsicht auf unsere neuesten Kenntnisse betreffs der rachitisheilenden Wirkung des bestrahlten Ergosterins, dessen Wirkung auch auf diesen Prozess zu prüfen!

Den Einfluss des Insulins auf den Lactacidogengehalt der Muskeln ist schon von mehreren Autoren untersucht worden, da allgemein erwartet wurde, es könne hier die Lösung der Frage nach dem unter Insulineinfluss verschwindenden Zucker gefunden werden. Der Gehalt an säurelöslichen organischen Phosphaten wurde, wenn das Insulin genügend lange eingewirkt hatte, ohne dass Krämpfe aufgetreten waren, bisweilen erhöht gefunden [Harrop und Benedict (253, 254), Audova und Wagner (9, 10)]. Zweifelhafte war das Ergebnis bei Collazo, Händel und Rubino (122, 123): es trat vielleicht eine geringe Abnahme auf, aber die Versuche waren unrein, weil immer zuvor eine grosse Menge Zucker eingespritzt wurde. Kay und Robison sahen die Gesamtmenge der organischen Phosphate nahezu unverändert bleiben (287); es trat aber eine innere Verschiebung ein in dem Sinne, dass die labile Fraktion, d. h. diejenige, die sich bei Autolyse schnell spaltet, stark zunahm auf Kosten der mehr stabilen. [Man vergleiche dies mit dem analogen Befund von Cori und Goltz (149) bei den organischen Leberphosphaten!] Auch Eadie, Macleod und Noble (162, 368) glaubten auf Grund ihrer Versuche mit Bestimmtheit sagen zu können, dass bei Kaninchen die keine Krämpfe gezeigt haben, Insulin keine Erhöhung der Menge des Muskel-lactacidogens bewirke. Die gleichfalls negativen Ergebnisse von Best,

Dale c. s. (29, 29a, 29b) wurden an Spinalkatzen erhalten: welchen Wert man aber Versuchsergebnissen an so pathologischen Objekten (Narkose, Trauma des ZNS und (oft) des Bauchfelles, sehr hoher Blutzucker, R. Q. = 1!) zusprechen darf, ist eine offene Frage.

Als Merkwürdigkeit sei hier noch erwähnt, dass nach György (245) Digipurat immer die Aufspaltung der organischen Phosphate des Herzmuskels deutlich beschleunige. Es wäre interessant, zu wissen, ob dies tatsächlich eine (oder vielleicht die) charakteristische Digitaliswirkung darstellt.

Dass das Harnphosphat zum grössten Teil in der Niere selbst durch fermentativen Abbau der organischen Phosphate des Blutes entstehen soll, erwähnen wir hier nur beiläufig [György (245), Eichholtz c. s. (168, 169, 170)]; man vergleiche diese Tatsache nur mit dem an anderer Stelle erörterten Verhalten von freiem Blutzucker und Hy-S in den Nierenarterien und -venen (s. S. 191). Bemerkenswert ist dabei auch der Befund des zuletztgenannten Autors (170), dass, wenn man bei einem Tiere die Hypophyse wegnimmt oder das Tuber cinereum punktiert, das anorganische Harnphosphat auf ein Minimum reduziert wird; dies stimmt mit den weiter unten zu erwähnenden Befunden (s. S. 220), dass Einspritzung von Hypophysenextrakt die Hy-S des Blutes erniedrigt, überein: offenbar bewirkt die Hypophyse in irgendeiner Weise die Spaltung der Hy-S, eine Spaltung, die ausbleibt, wenn man das Organ entfernt.

In Speicheldrüsen fehle nach Krause (296) jede Spur von lactacidogenartigen Substanzen.

Der Name „Hexosephosphat“, der jetzt so oft, statt eines besseren, verwendet wird, ist eigentlich nur ein Sammelbegriff. Denn man glaubt, schon folgende Verbindungen identifiziert zu haben:

Hexosediphosphat aus Hefe. Gefunden von Harden und Young [Proc. chem. Soc. London **21**, 189 (1905)]: Schwach rechtsdrehend (+ 3,2°) [Brugsch und Horsters (96)]. Das reduzierende Vermögen soll etwa 60% betragen von dem einer gleichen Gewichtsmenge Glucose bei Bestimmung nach Folin-Wu [Sjollema (494)].

Hexosediphosphat aus (nichtfrischem) Muskel: Stark linksdrehend (als Natriumsalz etwa -30°). Gibt im ungespaltenen Zustande nach Brugsch (96) kein Phenylhydrazinsalz bzw. Osazon; sie schreiben dies auf Rechnung einer Blockierung der Aldehyd- bzw. Ketongruppe durch die Phosphorsäurebindung. 5 Jahre zuvor aber hatten schon Embden und Laquer (173) die Herstellungsmethode des Osazons angegeben und als dessen Schmelzpunkt 148° erwähnt; es sei identisch mit dem Osazon des Hefelactacidogens.

Hexosemonophosphat, hergestellt aus Muskelhexosediphosphat durch partielle Hydrolyse mit Säure. Das Diphosphat ist, wie gesagt, stark linksdrehend, das daraus erhaltene Monophosphat aber rechtsdrehend [Brugsch und Horsters (96)]. Es zeigt eine positive Seliwanoff-Reaktion und liefert bei Hydrolyse eine rechtsdrehende Hexose [Brugsch, Gahen und Horsters (90)].

Hexosemonophosphat, aus frischem Muskel direkt hergestellt [Embden (174)]. Soll nach Lohmann [Biochem. Z. **194**, 306 (1928)] nahezu identisch sein mit

Hexosemonophosphat aus Hefe [Robison: Biochem. Z. **16**, 809 (1922)], das sich

vom Zuerstgenannten hauptsächlich durch eine andere optische Rotation unterscheiden soll (Brugsch c. s. 90):  $[\alpha]_D = +25^\circ$ , Strychninsalz  $[\alpha]_D = -23^\circ$  (413). Nach Sjollemma (494) betrage das nach Folin und Wu bestimmte reduzierende Vermögen etwa 70% von dem einer gleichen Gewichtsmenge Glucose. Neuberg und Leibowitz (413) gelang es kürzlich, das Robisonsche Monophosphat aus Hefehexosediphosphat herzustellen durch partielle Spaltung mittels eines frischen Extraktes aus Pferdenieren.

Hexosemonophosphat-Neuberg [Biochem. Z. 88, 432 (1918)]: Dieses besitzt nach Sjollemma (l. c.) etwa das gleiche reduzierende Vermögen wie die vorige Verbindung. Sein Strychninsalz hat aber eine Rotation  $[\alpha]_D = -30^\circ$ , und besitzt einen anderen Krystallwassergehalt (413).

Der Ester wurde hergestellt aus dem Hefe-Hexosediphosphat durch partielle saure Hydrolyse oder enzymatische Wirkung. Nach Meyerhof und Lohmann [Biochem. Z. 185, 113 (1927)] seien beide zuletzt genannten Substanzen Gemische und zwar enthalte der Robisonsche Ester hauptsächlich Aldosenderivate, während der Neubergsche zu etwa vier Fünftel aus Ketosenderivate und übrigens aus Aldosenverbindungen bestehe. Auch am Hexosemonophosphat aus Muskel (Embdenscher Ester) konnte Lohmann [Biochem. Z. 194, 306 (1928)] dartun, dass es nicht einheitlich war, sondern aus einem Gemisch von Aldosen- und Ketosenester bestand. Dabei seien nach seiner Ansicht die zugrundeliegenden beiden Zucker (Aldose und Ketose) in allen drei Fällen immer die gleichen. Für uns sehr wichtig ist ausserdem sein Befund, dass der Robisonsche (Embdensche) Ester so schwer hydrolysierbar ist; während nach dreistündiger Hydrolyse bei  $100^\circ$  mit  $\frac{N}{1}$   $H_2SO_4$  von Hexosediphosphat 94% des Phosphats in Freiheit gesetzt waren, war unter denselben Umständen vom Robisonschen Monophosphat nur 22,7% des Phosphats abgespalten. Damit sinkt die Wahrscheinlichkeit der Bedeutung der Monophosphate als Komponenten der Hy-S beträchtlich ab.

Übrigens müssen wir an dieser Stelle nochmals darauf hinweisen, dass mit der üblichen Bezeichnung „Lactacidogen“ meistens einfach Hexosephosphat ohne weiteres gemeint wird, während Embden und Laquer anfangs (173) unzweideutig gesprochen haben vom „einen Hexose-Phosphorsäure-Komplex enthaltenden Lactacidogen“, mit anderen Worten voraussetzten, dass das Hexosephosphat einen Teil ausmache von einem grösseren Molekül, welches sie dann Lactacidogen nannten, das aber unseres Erachtens wieder zum „Jecorin“ oder einer ähnlichen Substanzengruppe gehören könnte. Wir erinnern aber nochmals daran, dass man seit Embdens letzter Veröffentlichung unter dem Namen Lactacidogen ausschliesslich Hexosemonophosphat zu verstehen hat.

Am Schluss dieser Betrachtungen betreffs des Zucker-Phosphatkomplexes wollen wir noch daran erinnern, dass auch *in vitro* schon bei Zimmertemperatur beim Zusammenbringen von reiner Glucoselösung und reiner Phosphatlösung ähnliche Verbindungen sich bilden. Dies stellten Euler und Nilsson (181) fest auf Grund der Tatsache, dass der Gefrierpunkt solcher Gemische weniger tief liegt als mit der Summe der beiden Komponenten übereinstimmen würde. Besonders Fructose bildet schnell solche Verbindungen, Glucose in viel geringerem Ausmass. Diese Autoren geben ausserdem eine Zusammenstellung der weiteren Daten in der Literatur, die in diese Richtung weisen.

Auch die Experimente von Levene und Meyer (345, 346, 347) kann man hier unterbringen. Schon vor vielen Jahren haben sie festgestellt, dass, wenn man ein Gemisch von Muskelplasma und Pankreasextrakt auf bestimmte Zuckerlösungen einwirken lässt, ihr reduzierendes Vermögen abnimmt; dies war besonders bei d-Glucose und d-Fructose festzustellen. Die reduzierende

Kraft wurde aber wieder bis zur früheren Höhe gesteigert durch zweistündige Hydrolyse am Rückflusskühler mit 1%iger Salzsäure, oder einfach dadurch, dass man die Flüssigkeit bis zum zehnfachen Volumen mit Wasser verdünnte. Aus der Lösung mit erniedrigtem reduzierenden Vermögen, die also offenbar ein Kondensationsprodukt enthielt, wurde ein Osazon erhalten vom Charakter eines Biosazons, verunreinigt mit kleinen Mengen eines Monosazons. Denn es enthielt 12,12% N, gegen Glucosazon 15,6% und Biosazon 10,73%; der Schmelzpunkt lag bei 200°. Bei grösserer Verdünnung spaltete das Muskelplasma-Pankreasextrakt-Gemisch nicht nur die genannte komplexe Verbindung unbekannter Zusammensetzung, sondern auch Maltose, wie sich aus der Zunahme des reduzierenden Vermögens zeigte. Bei all diesen Versuchen wurde absolut steril gearbeitet. Die Autoren dachten an die Möglichkeit, dass das unbekannte Kondensationsprodukt Maltose sei; da aber Muskelsaft immer freies Phosphat enthält, muss man auch an die Möglichkeit denken, dass eine Verbindung hiermit zustande gekommen wäre.

Nur Glucose und Fructose lieferten solche Komplexe; Mannose, Ribose, Xylose und Lactose zeigten die genannten Erscheinungen nicht.

Schliesslich möge an dieser Stelle nochmals daran erinnert werden, dass auch nach modernen Autoren, z. B. Samec [zit. nach Gottschalk (234)] Glykogen gleichfalls ein Kohlenhydrat-Phosphorsäureester sei, dass aber die P-Menge prozentual so gering ist, dass dies für das uns hier beschäftigende Problem kaum in Frage kommt.

Andrerseits darf man nicht vergessen, dass auch die im Gefüge der Nucleinsäuren vorhandenen Kohlenhydrate — Pentosen in Hefenucleinsäure, Hexosen in Thymusnucleinsäure — sich darin vorfinden, kombiniert mit Phosphat [Armstrong (5, S. 84)].

### „Sucre virtuel“, „Glucoside“, „Glykolyse“.

Diese scheinbar so grundsätzlich verschiedenen Gegenstände werden wir in einem Kapitel abhandeln müssen, weil sie unseres Erachtens engstens miteinander zusammenhängen.

1891 stellten Lépine und Barral (329) fest, dass, wenn man Blut sofort aus dem Gefäss in ein Gefäss, das in Wasser von 58° steht, tropfen lässt, und es nach Defibrinieren eine Stunde darin belässt zum Zweck, das glykolytische Ferment unwirksam zu machen, man mehr Zucker, d. h. ein stärkeres reduzierendes Vermögen findet, als wenn man das Blut sofort in kochender Natriumsulfatlösung aufgefangen und weiter verarbeitet hatte. Verdünnt man das Blut mit Wasser, so sei im allgemeinen die Zunahme noch grösser, und noch weiter werde sie gesteigert, wenn man nach einer Vorerwärmung des Blutes während 15' auf 58° Invertin oder Emulsin zusetze und es damit 45' bei 39° belasse. Daraus schliessen sie, dass der in dieser Weise abgespaltene Zucker zuvor als Glucosid anwesend gewesen sei

(323, S. 41 usw.; 338). Die vielen mehr oder weniger beweisenden Protokolle, die sie am genannten Orte aufführen, werden wir hier nicht wiedergeben; über alle in den folgenden Seiten besprochenen Forschungen Lépines findet man eine gute Übersicht in seinem „Sucre du sang“ (323). Da dies hauptsächlich eine Wiederholung ist von seinen in periodischen Zeitschriften erschienenen Artikeln, wollen wir nicht immer aufs neue daraus zitieren. Für technische Besonderheiten sei verwiesen auf Lépine und Boulud (342). Dort geben die Autoren aber selbst schon zu, dass es bei Hundeblood nicht immer gelingt, diese Zuckerabspaltung deutlich nachzuweisen.

Noch mehr Zucker als bei einfachem Stehen wird frei, wenn man Blut mit Weinsäure hydrolysiert: diesen Pluszucker nannten sie „Sucre faible-ment combiné“; für die hier gebräuchliche Technik sei auf Lépine und Boulud (330) verwiesen. Anfänglich dachte Lépine, dass hier Glykuronsäure in Frage käme.

Endlich erhält man den maximalen Ertrag durch Hydrolyse mit einer Mineralsäure (sie verwendeten meistens HF): diese Fraktion nannten sie „Sucre fortement combiné“.

Die Summe dieser drei Fraktionen (unsere Hy-S) ist es also, was man für gewöhnlich unter dem Namen „gebundenen Zucker“ oder dem noch mehr irreführenden von „Eiweisszucker“ versteht. Lépine c. s. haben dafür den Namen „Sucre virtuel“ geprägt, und folgendermassen definiert:

1. Als die Glucose, die „keine Kupfersalze reduziert, nicht vergärt und polarisiertes Licht nicht nach rechts dreht, ausser wenn sie aus ihren vielen Bindungen, von denen viele sehr fest sind, gelöst ist. Dazu ist oft Hydrolyse mit einer Mineralsäure, z. B. HF, notwendig“ [Lépine und Boulud (341)].

2. Als die Glucose, „die man erhält durch Hydrolyse des zuvor gründlich gewaschenen Bluteiweisskoagulums“ (333). Diese Definition stimmt also nicht vollkommen mit der vorigen überein, denn sie geht aus von der unerwiesenen (und unrichtigen) Voraussetzung, dass enteiweisste Blutfiltrate nie hydrolysierbare Substanzen enthalten sollten: die schon referierten Versuche Pavys sind unter anderem geeignet das Gegenteil zu beweisen.

3. Die letzte Definition (1913) hat den Begriff des „sucre virtuel“ beträchtlich eingeschränkt und ihn reserviert für den „durch Fermente abspaltbaren Zucker“, mit Ausschluss aller anderen Fraktionen (323, S. 56; 331).

Wir wollen uns hier beschränken auf die unter die zuletzt genannte Definition fallende Fraktion, auf den Zucker also, der in Freiheit gesetzt wird, entweder durch die eigenen Fermente des Blutes bei einfachem Stehen oder auf Zusatz von Emulsin bzw. Invertin.

Lépine und Boulud sagen (325, 337), Hunderte von Malen die

Tatsache beobachtet zu haben, dass bei einfachem Stehen Blut Zucker abspaltet.

Dabei war ihre Methodik folgende:

a) Blut direkt nach Austritt aus dem Gefäss in Mercurinitratlösung auffangen.

b) Dasselbe Blut, zwecks Vermeidung von Glykolyse, sofort auffangen in Wasser von 58°, oder es auffangen in einem Becherglas von Zimmertemperatur mit viel (z. B. 10 g) NaF und gründlich rühren. Sobald die Masse homogen geworden ist, bringt man einen Teil in Mercurinitratlösung; den Rest lässt man zuerst 20' bei Zimmertemperatur stehen, bevor man Mercurinitrat zusetzt.

Die enteweissten Lösungen werden dann alle in der üblichen Weise auf Zucker weiterverarbeitet. Es soll dann die zuletztgenannte Portion den höchsten Zuckergehalt aufweisen.

Es erscheint nicht überflüssig hier gleich zu bemerken, dass die genannten französischen Autoren der Hauptsache nach mit Hundeblood gearbeitet haben.

Diesen Mitteilungen von Lépine c. s. sind heftige Angriffe von verschiedenen Seiten gefolgt. Mit Bierry z. B. hat die Polemik, von allerhand Missverständnissen getrübt, jahrelang gedauert, ohne dass der letztgenannte Autor je überzeugt wurde, dass tatsächlich bei einfachem Stehen der Zuckergehalt zunehmen kann. Bierry c. s. aber arbeiteten mit zuvor defibriniertem Blut, während Lépine nachdrücklich sagt, dass man das Blut sofort aus der Arterie in Mercurinitratlösung fließen lassen muss, um den richtigen Anfangswert zu bekommen [Bierry und Fandard (41, 43, 46, 47, 453, S. 167).]

Auch Macleod und Wedd (369) konnten in einigen wenigen (acht) Versuchen keine Bestätigung von Lépines Befunden erhalten. Lépine hat aber mit Recht darauf aufmerksam gemacht, dass die amerikanischen Autoren eine ganz andere Technik verwendet (324) und das Blut bei Körpertemperatur aufbewahrt haben, ohne es vorher auf 58° zwecks Zerstörung des glykolytischen Ferments zu erhitzen (übrigens, wie er selbst sagt, genügt auch dies bisweilen noch nicht vollkommen).

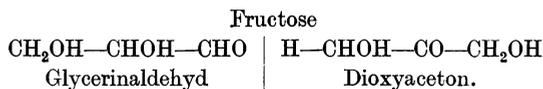
Ebenso zweifelhaft erscheint es bei den Versuchen von Ege (164, 165, 166), ob ihr negatives Ergebnis nicht, trotz seiner nachdrücklichen Versicherung, in fehlerhafter Technik ihre Erklärung fand, denn erstens liess er alles während der ganzen Versuchsdauer bei 58° verweilen, und zweitens spricht er mit keinem Wort von Sterilität, wenn auch die genannte Temperatur für die meisten Bakterien wohl tödlich gewesen ist.

Diesen negativen Nachprüfungen steht aber doch eine Reihe positiver gegenüber. So sah z. B. Sybrandy (518, 519) bei sterilem Blut gleichfalls ziemlich oft eine anfängliche Zunahme des reduzierenden Vermögens in Blut, das 2—4 Stunden im Brutschrank bei Körpertemperatur verweilt hatte. Am häufigsten war dies der Fall bei Blut von Diabetikern, ziemlich oft aber auch bei Nichtdiabetikern, und dann besonders in Blut dem nüchternen Patienten entnommen. In vereinzelten Fällen hatten auch Maclean (365), van Steenis (503), Sluiter und Kok (495) Ähnliches feststellen können. Es darf aber nicht verschwiegen werden, dass in Sybrandys Versuchen vorherige

Erwärmung auf 45—46°, statt, wie man nach Lépinés Versuchen erwarten würde, eine Steigerung der Glucoseabspaltung zu bewirken, diese gerade aufhob, ausser in einem einzigen Falle, wo tatsächlich eine geringe Zunahme sich zeigte. Darüber braucht man sich aber nicht allzusehr zu wundern, denn es verläuft, wie z. B. auch van Steenis (l. c.) festgestellt hat, die Glykolyse beim Menschen ganz anders als beim Hunde.

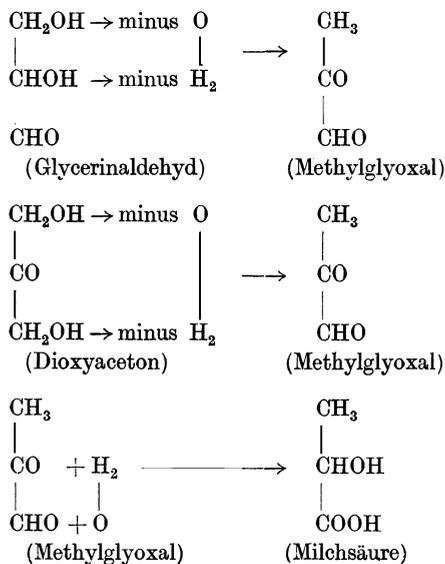
Einen wichtigen Fingerzeig haben Sluiter und Kok (l. c.) gegeben, indem sie darauf hinwiesen, dass beim Zuckerabbau im Blute wahrscheinlich reduzierende Spaltprodukte gebildet werden, besonders Glycerinaldehyd und vielleicht auch Dioxyaceton. Da nun aus einem Molekül Glucose zwei Moleküle Glycerinaldehyd entstehen, könnte, wenn die Bildung dieser Substanz schneller stattfindet als ihr Abbau zur Milchsäure, tatsächlich eine vorübergehende Steigerung des reduzierenden Vermögens stattfinden. Versuche, den Glycerinaldehyd als solchen zu identifizieren gelangen ihnen zwar zum Teil, aber die Labilität dieser Substanz ist so gross, dass es äusserst schwierig war, Sicherheit zu erlangen.

Auch andere Autoren scheinen immer mehr zur Überzeugung zu gelangen, dass den 3 C-Verbindungen eine wichtige Rolle im lebenden Körper zukommt. So z. B. Mac Lean (320), der sich die Sache nicht nur bei der Glykolyse in vitro, sondern auch in vivo, folgendermassen vorstellt:



Der Autor geht bei seinem Schema aus von Fructose, weil nach ihm die in vivo vorkommenden Hexosephosphate einen Zucker enthalten, der die für Fructose charakteristischen Reaktionen aufweist.

Der weitere Abbau sollte sich dann folgendermassen vollziehen:



Der ganze Vorgang vollzieht sich also insofern ohne jede eigentliche Oxydation.

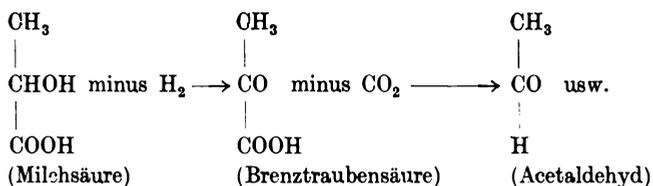
[Wieder in Zusammenhang mit einem anderen Problem, und zwar der Insulinfrage, sei hier daran erinnert, dass bei der Insulinvergiftung Dioxyaceton in genügender Dosis eine sofortige vollständige Erholung herbeiführen soll (Herring, Irvine und Macleod, Laufberger), während Fructose nur vorübergehende Besserung bewirkt (Herring, Irvine und Macleod, Campbell und Fletcher); Glycerinaldehyd ist unter diesen Umständen völlig unwirksam (Hewitt c. s., Lancet 1926, II, 703). Methylglyoxal ist nach Fischler (195, 196, 197, 198), demgegenüber höchstwahrscheinlich für das Zustandekommen der Insulinkrämpfe verantwortlich zu machen, da es genau dasselbe physikalische Vergiftungsbild darbietet wie Insulin, während doch der Blutzucker nahezu unverändert bleibt. Die Milchsäure schliesslich lässt keinerlei heilende Wirkung bei der Insulinhypoglykämie erkennen (Laufberger, Noble und Macleod).]

Nach den Bestimmungen von Fischler und Hirsch (198) beträgt das reduzierende Vermögen pro Gewichtseinheit Trockensubstanz bei Bestimmung nach der Methode Hagedorn-Jensen: bei Glucose 100, bei Dioxyaceton 136, beim Methylglyoxal aber nur 47. Stellt man sich vor, dass diese drei Phasen der Reihe nach auch von einem Teil des freien Blutzuckers durchlaufen werden, so würde das ziemlich mit den obenerwähnten, bei der Glykolyse bisweilen und unter bestimmten Umständen beobachteten Änderungen des freien reduzierenden Vermögens übereinstimmen. Es sei aber vorausgeschickt, dass der zwingende chemische Beweis dafür noch aussteht.

Glycerinaldehyd und Dioxyaceton reduzieren Fehlingsche Lösung fast momentan, auch in der Kälte, und auch Methylglyoxal bewirkt dies, wenn auch weniger schnell. Mit Recht weisen Fischler c. s. (l. c.) darauf hin, dass man bei so reaktiven Substanzen, besonders den beiden ersten, erwarten muss, dass sie im Blute sich sehr schnell an andere Stoffe binden werden. Tatsächlich konnten Neuberg und Kobel (412) feststellen, dass ebensowie beim Zusammenbringen von Eiweissderivaten mit Zuckerarten (s. S. 109), so auch beim Zusammentreffen von den 3 C-Verbindungen (insbesondere Methylglyoxal, aber auch Dioxyaceton und Glycerinaldehyd, je nachdem sich daraus Methylglyoxal bildet) mit Aminosäuren (Alanin, Glykokoll, Phenylaminoessigsäure) sich eine Reaktion einstellt, die sich zuerst in einer momentanen Änderung der optischen Rotation äussert. Diese ersten Phasen des Prozesses kämen dann vielleicht mit der Zunahme der Hy-S im Anfangsstadium der Glykolyse überein. Später tritt Gelb- bzw. Braunfärbung ein; dabei wird die Aminosäure desaminiert, man kann Acetaldehyd abdestillieren, und es entweicht Ammoniak, sobald man Lauge zusetzt.

Ist einmal Methylglyoxal gebildet, so wird dies von der in vielen Geweben vorkommenden Glyoxalase mit grosser Geschwindigkeit in Milchsäure umgesetzt; dies geschieht so schnell, dass man sich nicht zu wundern braucht, dass man bisher das Methylglyoxal nicht hat identifizieren können (Macleod 320).

Der weitere Abbau soll folgendermassen verlaufen:



Ausser unter dem Einfluss der im Blute schon präformiert vorhandenen Fermente könne nach Lépine eine Abspaltung von Zucker auch zustande kommen, wenn man dem Blute Invertin oder Emulsin zusetzt (325, 342). Dies brachte ihn auf den Gedanken, der abgespaltene Zucker sei zuvor glucosidisch am Eiweiss gebunden gewesen: eine Idee, die schon viel früher von Pavy [Proc. roy. Soc. 54, 53 (1881), zit. nach 433, S. 31 usw.] geäußert war, ohne dass er aber experimentelle Beweise dafür hat liefern können. Diese schienen erst beigebracht durch die genannten Befunde Lépinés betreffs der hydrolysierenden Wirkung von Emulsin und Invertin. Und als Kreuzprobe führte Lépine an, dass ein Extrakt aus Gefässwand, der imstande ist, ebenso den „Sucre virtuel“ abzuspalten, gleichfalls Phlorhizin in Phloretin und Glucose zerlegt (324). Weiter konnte er noch feststellen, dass eine Maceration der Conidien von *Aspergillus niger* auch den „Sucre virtuel“ in Freiheit setzen kann (337). Dies alles würde also wohl für eine glucosidische Struktur wenigstens einer der komplexen Zuckerverbindungen des Blutes sprechen.

Dagegen spricht vielleicht, dass es Mme. Randoïn (453, S. 168) nicht gelang, die Spaltung durch Emulsin oder Invertin zu beobachten. Es erscheint immerhin möglich, dass auch dieser negative Befund dadurch verursacht wurde, dass die technischen Vorschriften Lépinés nicht vollständig befolgt wurden. So kann man, vorausgesetzt, dass Lépinés Ansichten richtig sind, annehmen, dass z. B. während der zum (überflüssigen) Defibrinieren nötigen Zeit schon ein Teil des Zuckers frei wird, welcher Teil also ein Fehlbetrag ist gegenüber den Werten, die man bei richtiger Technik hätte finden sollen.

Zweitens würde nach Krawkow (297) gegen die Glucosidnatur sprechen, dass beim Erhitzen mit Wasser auf 150° der gebundene Zucker des Blutes nicht abgespalten wird, während doch richtige Glucoside dies wohl tun. Dem stehen aber die Ergebnisse von Edie und Spence (163) gegenüber, dass schon eine Erhitzung auf 100° zwecks Fällung des Bluteiweiss genüge, um das Reduktionsvermögen (berechnet aus dem des Dialysats) zu erhöhen.

Eine ähnliche Erhöhung haben die zuletzt genannten Autoren auch beobachten können, ohne Erwärmung, wenn durch das Blut CO<sub>2</sub> durchgeleitet wurde; andererseits ging diese Erhöhung wieder zurück, sobald die Kohlensäure durch Sauerstoff ersetzt wurde. Dies alles würde sich ganz gut mit den oben erwähnten Ansichten und Ergebnissen von Sluyter und Kok (l. c.) vereinigen lassen.

Roger c. s. (466) geben zwar an, dass auch bei Durchleiten von Sauerstoff in vitro gebundener Zucker in seine Komponenten gespalten werde,

aber auch hier wird vielleicht der momentane Befund beherrscht von der relativen Geschwindigkeit der anaeroben Zuckerspaltung (unter anderem zu Glycerinaldehyd) einerseits, im Verhältnis zu der der aeroben (zu  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$ ): die algebraische Summe von beiden Prozessen bestimmt das Verhalten des reduzierenden Vermögens. Nach Lépine (326) ist bei Abschluss der Luft die Abnahme des reduzierenden Vermögens geringer.

Vor kurzem ist, nach einer Pause von vielen Jahren, das Problem zu neuem Leben geweckt worden durch Gabbes Untersuchungen (219, 220, 221, 222). Es gelang ihm tatsächlich, einige der Hauptsachen von Lépines Ergebnissen experimentell zu bestätigen: Emulsin, und auch Takadiastase zeigten sich unter passenden äusseren Umständen, richtigem  $p_{\text{H}}$  usw., imstande, beträchtliche Mengen reduzierender Substanz aus ihren Verbindungen zu lösen. Es stellte sich heraus, dass die in dieser Weise spaltbaren Verbindungen nahezu ausschliesslich sich in den Erythrocyten befinden und nicht im Plasma; die Zunahme des Reduktionsvermögens betrug im Gesamtblut von nüchternen gesunden Kaninchen und Menschen (27—) 38 (—55)% des Anfangswertes; in Erythrocytenbrei wurden Zunahmen bis zu 300% beobachtet! Anfangs war Gabbe noch keineswegs überzeugt, dass es tatsächlich Zucker ist, der in Freiheit gesetzt wird; später aber konnte er feststellen, dass wenigstens der durch Emulsineinwirkung abgespaltene Stoff mit Hefe vergärbar ist. Die negativen Ergebnisse mancher anderer Forscher glaubt Gabbe dadurch erklären zu können, dass sie unter ungeeigneten äusseren Umständen, bei unrichtigem  $p_{\text{H}}$  z. B., gearbeitet haben. Die hier in Frage stehenden, durch die genannten Fermente spaltbaren Substanzen wurden von Alkohol und von Barytwasser gefällt, sie waren löslich in salzsaurem Pyridin. In diesem Zusammenhang sei daran erinnert, dass, wie schon a. a. O. erwähnt (S. 132), Robison erstens gefunden hat, dass Blut ein organisches Phosphat enthält, das ein unlösliches Bariumsalz liefert, und zweitens feststellen konnte, dass das Hexosemonophosphat, das durch Einwirkung von Hefesaft auf Glucose oder Fructose entsteht ( $[\alpha]_{\text{D}} = +25^\circ$ ), durch Emulsin spaltbar ist. Dann hat Lawaczek angegeben, dass die organischen säurelöslichen Phosphate besonders in den Erythrocyten vorkommen. Diese verschiedenen Befunde lassen sich also untereinander gut vereinigen; ausserdem geben sie vielleicht einen Fingerzeig betreffs des intimeren Mechanismus der in den folgenden Seiten zu besprechenden Erscheinungen.

Best(29a) hat unter der Voraussetzung, dass Blut möglicherweise Isomaltose (= Glucose- $\beta$ -Glucosid) enthalte, eiweissfreie Blutdekokte hergestellt (in solcher Weise aber, dass die Möglichkeit einer schwachen Hydrolyse nicht von der Hand zu weisen war), die anwesenden Monosen, samt der Lactose mit Lactosehefe vergoren und dann das ausschliesslich  $\beta$ -Glucoside aufspaltende Emulsin zugesetzt. Das Ergebnis war negativ, woraus Best den Schluss zieht, dass sein Extrakt keine Isomaltose enthielt. Verallgemeinernd behauptet er

dasselbe auch für Blut, aber dazu scheinen seine Versuche doch nicht ausreichend.

### Glykolyse.

Die Glykolyse in vitro, d. h. das Verschwinden des freien Blutzuckers aus dem Blute, wenn man dies, steril, sich selbst überlässt, ist, wie bekannt die Erscheinung an sich auch sei, in ihrem Mechanismus bis vor kurzem vollkommen ungeklärt geblieben. So einfach, wie man es sich oft vorstellte, d. h. als direkte Bildung von Milchsäure aus der Glucose, eine echte Glykolyse also, verläuft sie sicher nicht [vgl. Randoin (453, S. 187)], und höchstwahrscheinlich spielt auch bei diesem Prozess der „gebundene Zucker“ eine wichtige Rolle.

Bierry und Fandard (45, 453, S. 182) geben an, dass bei aseptischer Glykolyse in vitro bei 35° der freie Zucker aus dem Blute verschwinde, aber der Gehalt an „gebundenem Zucker“ unverändert bleibe; letzterer glykolysiere ihres Erachtens nicht. Das bestritten Lépine und Boulud (335), mit auf Grund ihrer Bewertung der Rolle des „sucre virtuel“. Erstens sollen nach ihnen einige Bindungen so wenig fest sein, dass der Zucker schon ohne weiteres eine Viertelstunde, nachdem das Blut die Gefäße verlassen hat, abgespalten ist; trifft man keine besonderen Massnahmen, so verschwindet auch dieser ebenso wie der freie Zucker ihrer Meinung nach sofort durch Glykolyse, wobei den Leukocyten eine bedeutende Rolle zukomme. Sehr stark sollen diese Erscheinungen sein, wenn man zuvor den Ductus Wirsungianus abbindet, Pankreasextrakte intravenös einspritzt oder einen beträchtlichen Blutverlust bewirkt; dabei sind sie am deutlichsten, wenn man das Blut eine Stunde im Brutschrank belässt (331). Ihres Erachtens kann die Meinung von Bierry und Fandard nur für den fest gebundenen Zucker zutreffen.

Später hat Lépine (327) dieses letzte Problem selbst zur Hand genommen und den „gebundenen Zucker“ bestimmt durch Hydrolyse mit HF. Im Gegensatz zu den vorigen Autoren beobachtete er bisweilen wohl eine Abnahme auch des „gebundenen Zuckers“ während des glykolytischen Prozesses, sogar wenn das Blut erst 1 Stunde bei 37° verweilt hatte (326). Mögen übrigens Lépinés Ergebnisse, nach den mitgeteilten Protokollen zu urteilen, nicht sehr überzeugend gewesen sein, es bleibt sein grosses Verdienst, deutlich formuliert zu haben (326), dass man unterscheiden muss zwischen echter Glykolyse, bei der der Zucker verschwindet, weil er zerstört wird, und scheinbarer Glykolyse, bei der er sich dem direkten Nachweise entzieht dadurch, dass er für den Aufbau anderer Komplexe („gebundenen Zucker“) verwendet wird. Diese Komplexe sollen von Mercurinitrat nicht gefällt werden und schon durch schwache Säuren hydrolysierbar sein, während stärkere sie oft zerstören sollen (vgl. Kapitel: Hydrolyse von ent-eiweisstem Blut).

Sogar seine erbittertsten Gegner, Bierry c. s. (66), haben die Hauptsache später bestätigen müssen: auch sie beobachteten während der aseptischen Glykolyse bisweilen eine auftretende Zunahme der Hy-S; endlich aber glykolytisch auch diese, wie sie jetzt auch, im Gegensatz zu ihrer früheren Meinung, anerkennen.

Wittop Koning (293) behauptet, er habe im Anfang der Glykolyse das reduzierende Vermögen einer gegebenen Blutprobe absinken sehen, während nach 1 bis 2 Tagen wiederum eine beträchtliche Erhöhung desselben zu beobachten war. Er arbeitete aber nicht steril, und verwendete Blut, das, in Fliesspapier aufgesogen, in warmfeuchter Umgebung aufbewahrt wurde, so dass also reichlich Gelegenheit bestand sowohl für bakterielle Zersetzung des Blutes als für eine solche des Fliesspapiers. Diese Versuche sind deshalb für das Problem des „sucre virtuel“ vollkommen unbrauchbar. Nicht viel besser steht es mit den kürzlich veröffentlichten Versuchen Rohnys (467), bei denen offenbar ebensowenig auf Sterilität geachtet wurde; doch ist es auffällig, dass die Ergebnisse gut mit denen Konings stimmen: Hundeblut, mit Oxalat versetzt und bei 0° bzw. 11° bzw. 22° gehalten, zeigte nach einem Tage eine beträchtliche Abnahme des reduzierenden Vermögens; oft wurde danach wieder eine Steigerung beobachtet. Serum ohne Oxalat wies schon nach einer halben Stunde eine beträchtliche Zunahme des reduzierenden Vermögens auf, besonders wenn das Koagulum entfernt war. War dies nicht der Fall, so waren die Werte niedriger und sanken innerhalb 24 Stunden zu einem ebenso niedrigen Spiegel ab als im Oxalatblut.

Diese Befunde Rohnys am Blute normaler Hunde wurden von Aszódi (8) am Blute pankreasloser Tiere vollkommen bestätigt; in beiden Fällen sei der Verlauf der Glykolyse vollkommen gleich; nur ist im letzten Falle der Ausgangspunkt des freien Zuckers viel höher, und ist auch die Zunahme in Serum sehr stark (Maximum nach 1—5 Stunden bei 0°!). Nach 24stündigem nichtsterilen Aufbewahren war bei Serum, das vom Koagulum getrennt war, das reduzierende Vermögen noch sehr hoch, während es bei Anwesenheit des Blutkuchens dann schon tief abgesunken war.

Condorelli (125) hat wohl auf Sterilität geachtet bei seinen Versuchen. Auch er sah im Anfang der Glykolyse regelmässig Zucker von der freien in die gebundene Form, die er als Glykoglobulin bezeichnet, übergehen, so dass, wenn der freie Zucker eine sehr beträchtliche Erniedrigung zeigte (nach sechsstündigem Stehen bei Zimmertemperatur), der Gesamtzuckergehalt oft noch vollkommen unverändert war (125, 130, 135, 136). Nach ihm soll für diese Erscheinung, im Gegensatz zur wirklichen Glykolyse, die Anwesenheit von Blutzellen nicht unbedingt notwendig sein. Arbeitete er mit Plasma, so war der Übergang von der freien in die gebundene Form zwar viel weniger ausgebiegt als bei Vollblut, aber dem stand gegenüber, dass nach Entfernung der Blutzellen auch die Neigung zu echter Glykolyse vermindert ist, so dass die

Ergebnisse eher deutlicher werden. Doch diffundiere nach ihm oft glykolytisches Ferment aus den Zellen in das Plasma: dadurch tritt dann im zellfreien Plasma doch eine schwache Glykolyse auf, die die Versuche verdirbt. In den Beispielen, die er mitteilt, nahm in Plasma bei fünfständigem Stehen bei 18° die Hy-S um 0,15—0,36 pro mille zu. Die genannte Temperatur wählte er, weil dabei die Erscheinung am deutlichsten ist; in der Wärme verlaufe sie so schnell, dass es kaum gelingt, sie zu verfolgen. Aber auch im Eisschrank aufbewahrtes Blut zeigt schliesslich doch Glykolyse (135). Spaltung der Hy-S schon von Anfang an, hat er in vitro nur einmal beobachtet und zwar nach Extrazusatz von Glucose.

Nach Condorelli sind die „Glykoglobulin“-synthese und die echte Glykolyse zwei untereinander vollkommen unabhängige, durch die Wirkung zweier verschiedener Fermente hervorgerufene Erscheinungen. Das quantitative Verhalten dieser Fermente hat er genau verfolgt (126); aus der Tatsache, dass es sich herausstellte, dass die Hy-S-Synthese den quantitativen Gesetzen der monomolekularen Reaktionen folge, schliesst er, dass das Reaktionsprodukt, die Hy-S also, das sich beim glykolytischen Prozess anfänglich bildet, eine bestimmte chemische Verbindung sein muss. Die Berechnungen, Formeln und Kurven, auf die er dies alles gründet, werden wir hier nicht wiederholen.

Betreffs des Wirkungsmodus dieser Fermente kam Condorelli (l. c.) zum merkwürdigen Schluss, dass, während das Hy-S-synthetisierende Ferment keine latente Periode besitzt, dieser für das glykolytische Ferment bei 40° 15', bei 15° hingegen nicht weniger als etwa 4 Stunden beträgt. Das Hy-S-aufbauende Ferment aber wird bei 40° schnell unwirksam, während die Destruktion der Hy-S, wenn auch protrahiert, weitergeht. Aus diesen Befunden ist sodann das widersprechende Ergebnis früherer Autoren leicht zu erklären.

Wie wir schon erwähnten, ist die Anwesenheit bzw. das Fehlen der Blutzellen von ausschlaggebender Bedeutung. Die wirkliche Glykolyse, die algebraische Summe von Synthese und Abbau also, mit anderen Worten die Verminderung des Gesamtzuckergehalts, ist bei weitem am stärksten, wenn man das Plasma in Berührung lässt mit den Formelementen des Blutes: in reinem Plasma ist sie viel geringer (125). Aber auch die Zellen allein sind hierzu nicht befähigt; gewaschene rote oder weisse Blutkörperchen, in Berührung gebracht mit glucosehaltiger physiologischer Kochsalzlösung, sollen davon keine Spur glykolysieren; bringt man sie aber wieder mit Plasma zusammen, so entfalten sie wiederum ihre volle glykolytische Tätigkeit (125, 130). Offenbar enthält das Plasma doch auch einen unentbehrlichen Bestandteil. [Bufano (98) betrachtete diese letzten Versuche als zu unphysiologisch, um viel Beweiskraft zu haben.]

Setzt man Vollblut noch extra Glucose zu, so verschwindet die Hy-S aus dem Plasma; setzt man Plasma Glucose zu, so bleibe der Hy-S-Gehalt unverändert (125).

In einer gegebenen Blutprobe kann Glykolyse ausbleiben entweder durch Fehlen des Hy-S-aufbauenden Fermentes oder durch Fehlen des echten glykolytischen Fermentes. Denn nach Condorelli soll die echte Glykolyse erst dann möglich sein, wenn zuvor der freie Zucker an Globulin gebunden ist. Die Formelemente des Blutes sollen nicht den freien, sondern nur den „gebundenen“ Zucker fixieren können: daher auch finde man bisweilen nach längerem Stehen bei Zimmertemperatur (z. B. 24 Stunden) gerade die Hy-S stark erniedrigt, während der freie Zuckergehalt augenscheinlich unverändert ist (130).

Über die Frage, ob die gebundene Zuckerphase für das Zustandekommen der echten Glykolyse unbedingt notwendig ist, ist eine Diskussion entstanden zwischen Condorelli und Bufano. Zwar waren beide darüber einig, dass an der Glykolyse zwei verschiedene enzymatische Prozesse beteiligt seien, aber es bestand insofern ein Unterschied, als Condorelli glaubte, dass der Übergang von freiem in gebundenen Zucker irreversibel sei, während Bufano (97) die Meinung verteidigte, dass dieser wohl umkehrbar sei, und zwar hauptsächlich auf Grund der Ergebnisse Lépinés betreffend den „sucre virtuel“, der dann abgespalten werde unter Einwirkung eines im Blute vorkommenden abbauenden Fermentes. Demgegenüber gab Condorelli später zu (127), dass auch er den Vorgang wohl als reversibel ansieht, obwohl er in seinen Versuchen, die fast alle eine bestimmte Phase der Glykolyse betrafen, nahezu regelmässig eine Zunahme der Hy-S fand. Er konstatiert, dass seine experimentellen Befunde vollkommen mit denen Bufanos übereinstimmen.

Das Wiederfreiwerden des Zuckers aus der gebundenen Form im Sinne von Lépinés „sucre virtuel“ hat Condorelli in vereinzelt Fällen unter pathologischen Umständen beobachtet; Bufano sah es auch, wenn auch sehr selten, im Blute normaler Tiere.

Condorelli hat seine Untersuchungen wiederholt an 29 Diabetikern. Bei diesen war der Hy-S-Gehalt im Blute von vornherein oft sehr niedrig, bisweilen sogar gleich Null. Aber der Zuckerschwund war bei diesen niedrigen Werten viel geringer als bei Normalblut; oft trat in 24 Stunden bei 18° gar keine Erniedrigung auf, andermal war dieser wohl nachweisbar, aber doch viel geringer (0—43%) als normal (51—64%). Daraus schliesst Condorelli, dass bei Diabetes sowohl die „Glykoglobulin“-synthese als die echte Glykolyse schwach sei (125, 130). Dieselben Erscheinungen hat er aber auch beobachtet bei vielen Leberkranken ohne Hyperglykämie, und Brugi (89) konnte dies völlig bestätigen; sie können also nicht für den Diabetes kausal sein, wie man so oft annimmt.

Einige experimentelle Variationen hat Bufano (98) studiert, wenn auch mit anderer Technik (Blut im Brutschrank bei 36—38°). Bei Blut eines Insulinkaninchens, das starke Krämpfe gezeigt hatte, war in 1½ Stunden

aller freie Zucker verschwunden und in Hy-S übergegangen, während die Summe der beiden Fraktionen sich nur um ein geringes erniedrigt hatte.

Demgegenüber hatte vorherige Phlorhizinverabreichung, allein oder mit Insulin zusammen, keinerlei regelmässigen Einfluss auf das Verhalten des Blutes während der Glykolyse. Hier muss man aber bemerken, dass er nur Bestimmungen des freien und gebundenen Zuckers ausgeführt hat vor und  $\frac{1}{2}$  bzw. 1 Stunde nachdem das Blut in den Brutschrank gestellt war; über den quantitativen Verlauf der Glykolyse in diesen Fällen geben diese spärlichen Daten also kaum Aufschluss, abgesehen auch von der sehr ungeeigneten, viel zu hohen Temperatur.

Im Blut von seit 2 Tagen hungernden Kaninchen sank beim Aufenthalt im Brutschrank gerade die Hy-S sehr stark ab, während der freie Zucker eine verhältnismässig viel geringere Abnahme zeigte in der 1— $\frac{1}{2}$  Stunden dauernden Beobachtung.

Parallel mit diesen Versuchen Condorellis verlaufen die von Bierry und Moquet (51, 52). Sie verfolgten im Blut, das im Brutschrank bei  $38^{\circ}$  oder  $42^{\circ}$  gehalten wurde, sowohl den freien Zuckergehalt als das anorganische Phosphat. Der freie Zucker verschwand kontinuierlich, in der ersten halben Stunde unregelmässig, in der zweiten meistens viel deutlicher. Nahezu denselben Verlauf wies auch das anorganische Phosphat auf. Deshalb denken sie an die Möglichkeit, dass die Glykolyse vielleicht über Hexose monophosphat verlaufe. Setzten sie dem Blute noch Extraglucose und Phosphat zu, so wurde die Wahrscheinlichkeit dieser Voraussetzung noch deutlicher. Offenbar aber war diese Bindung nur eine vorübergehende, denn nach 24 Stunden war aller freie Zucker verschwunden, aber es war wieder eine grosse Menge Phosphat frei geworden. Die Autoren glaubten Hinweise gefunden zu haben, dass dieser Vorgang in vitro durch Insulinzusatz noch verstärkt wird, erwähnen dies aber nur mit aller Reserve.

Eine kategorische Verneinung all dieser Befunde Bierrys haben aber alsbald Morgulis und Barkus (398) veröffentlicht; nach ihnen erscheine Milchsäure je nachdem Glucose verschwinde, und bleibe der anorganische Phosphor unverändert: letzterer soll nur dann zunehmen, wenn zugleich Hämolyse eintritt, und dann hiermit etwa proportional.

Martland c. s. (379) erwähnen einige wenige Versuche mit hämolysiertem Menschen- und Kaninchenblut, offenbar bei Zimmertemperatur, bei einer Versuchsdauer von maximal 216 Stunden!! Sterilität wird nicht erwähnt. Unter diesen zweifelhaften Umständen stiegen sowohl das freie anorganische Phosphat als das freie reduzierende Vermögen allmählich und ziemlich regelmässig an.

Weiter hat Piazza (442) die Versuche von Bierry und Moquet nochmals wiederholt; er studierte gleichzeitig das Verhalten des freien und des gebundenen Zuckers neben dem des anorganischen Phosphats bei der Glykolyse

von Blut, das während einer Stunde bei 40° (!) gehalten wurde. Immer wurde frisches Menschenblut untersucht, einmal auch das eines Hundes. Er hat nur Bestimmungen ausgeführt vor dem Versuch und nachdem das Blut eine Stunde im Wasserbade gestanden hatte! Dabei beobachtete er in nur 5 von den 10 Fällen eine Zunahme der Hy-S; er gesteht aber selbst, dass die Temperatur zu ungünstig war, um diese Phase der Erhöhung deutlich zu sehen. In seinen 10 Versuchen sah er achtmal den anorganischen Phosphor ansteigen, zweimal um ein geringes abnehmen; die Zunahme war aber viel geringer als Bierry und Moquet angeben. Piazza lenkt die Aufmerksamkeit darauf, dass keine Spur von Parallelismus zu entdecken war zwischen Glykolyse einerseits und Freiwerden von Phosphat andererseits. Daraus schliesst er, ganz passend zu seinen weiteren heftigen Angriffen auf die Lactacidogenlehre, dass auch bei der Glykolyse Lactacidogen gar keine Rolle spiele; unseres Erachtens eine Behauptung, die in diesen Versuchen keineswegs eine Stütze findet. Denn, wie wir noch sehen werden, ist das Phosphat noch in andere Prozesse im glykolysierenden Blute miteinbezogen, und man darf deshalb aus der algebraischen Summe von all diesen nicht allzuviel schliessen, um so weniger wenn man diesen nicht Schritt für Schritt verfolgt, sondern nur einmal bestimmt, und zwar während eines Prozesses, der durch die zu hohe Temperatur vollkommen unphysiologisch verläuft.

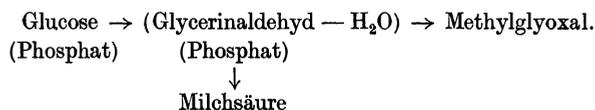
Doch war die Sache zu wichtig, um sie damit als erledigt zu betrachten. Deshalb haben Rona und Iwasaki (468) sich aufs neue damit beschäftigt. Sie konnten feststellen, dass, wenn man Blut bei 37° stehen lässt (bei welcher, gleichfalls noch zu hohen, Temperatur die erste, synthetische Phase nach Condorelli so schnell verlaufen soll, dass sie diese deshalb wohl übersehen haben), das freie anorganische Phosphat zunimmt, dass aber diese Erscheinung unabhängig ist von der echten Glykolyse; denn wenn sie diese aufhoben, durch Zusatz von NaF oder dadurch, dass das  $p_H$  auf 6,0 gebracht wurde, so ging die Phosphatabspaltung ungestört fort, war bei diesem  $p_H$  sogar maximal. (Unseres Erachtens wird das Problem hierdurch kaum berührt, denn es ist hier nicht die Frage, was nach der Spaltung eines eventuellen Hexosephosphats mit der Zuckerkomponente geschieht. Ausserdem stimmen die beobachteten Tatsachen ganz gut zu Condorellis Annahme zweier an der Glykolyse betätigten Fermente.) In nach Schenck mittels Sublimat enteewissten Blutfiltraten beobachteten sie tatsächlich bisweilen eine anfängliche Abnahme des anorganischen Phosphates, immer gefolgt von einer Zunahme; dies betrachten auch sie als einen Hinweis, dass vielleicht im Anfang der Glykolyse synthetische Prozesse auftreten. Man muss sich aber wundern, dass offenbar die Synthese und Abbau bewirkenden, Fermente beide mehr oder weniger vollständig der Sublimatzerstörung entgangen seien: dies könnte darauf hinweisen, dass sie von einfacherer Molekularstruktur seien als die meisten anderen, eiweissartigen Enzyme.

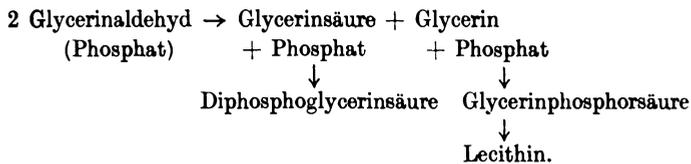
Weiter kann man gegen diese Versuche anführen, dass die Untersucher durch Wahl ungeeigneter Bedingungen ihr Ziel verfehlt haben; weiter, dass keine einzige Bestimmung weder des freien noch des gebundenen Zuckers ausgeführt wurde, und schliesslich, dass hinsichtlich der Sterilität nur der Gebrauch steriler Glasperlen zum Defibrinieren erwähnt wird. Zugunsten dieser Forscher kann man aber bemerken, dass sie eine Methode ausgearbeitet haben, die eine Mikrophosphatbestimmung auch in Hydrolysaten ermöglicht: etwas, worum wir selbst uns lange Zeit vergebens bemüht haben.

Beiläufig sei noch die Aufmerksamkeit gelenkt auf den merkwürdigen Befund Caltabianos (106), dass der glykolytische Vorgang sowohl in seiner ersten, synthetischen, als in der zweiten, echtglykolytischen Phase, beschleunigt werde durch Bestrahlung mit Sonnenlicht, und zwar besonders wenn die Blutzellen anwesend sind; in Plasma sei die Erscheinung viel geringer. Photokatalytische Wirkung von Hämoglobin oder Kalisalzen glaubt er auf Grund von Kontrollversuchen ausschliessen zu können, ebenso wie die Wirkung der Wärmestrahlen. Es soll eine direkte Aktivierung sowohl des glykosynthetischen wie des glykolytischen Fermentes sein, deren beider Vorhandensein er annimmt.

Um eine bessere Einsicht zu erhalten, hat man auch Versuche mit isolierten Blutzellen angestellt. Nach Jost (283) spielen Leukocyten nur eine untergeordnete Rolle, die Erythrocyten hingegen die wesentliche, aber unter der Bedingung, dass sie ganz intakt seien. In vollkommen isotonischem Milieu und bei schwach alkalischer Reaktion sah er bei Körpertemperatur hinzugesetztes Phosphat zuerst verschwinden, um dann allmählich wieder frei zu werden. Dieses Verschwinden war noch stärker und hielt noch länger an, wenn ausserdem noch Glucose zugesetzt war.

Anoxybiose oder Zusatz von HCN beeinflusste weder die Veresterung noch die echte Glykolyse merkbar; NaF hemmte aber an allererster Stelle die synthetische Phase vollkommen [also genau in Übereinstimmung mit den eben erwähnten Befunden von Rona c. s.]. Das bemerkenswerteste Ergebnis dieser Versuche war aber der Befund, dass das verschwundene Phosphat hauptsächlich für den Aufbau von Diphosphoglycerinsäure dient, während offenbar nur in den ersten Stadien der Glykolyse vorübergehend Hexosephosphatester gebildet werden. Das Bleisalz der Diphosphoglycerinsäure ist in Wasser unlöslich, das der Zuckerester hingegen löslich: darauf beruht die Trennung. Mit im Zusammenhang mit dem sofort zu besprechenden „Jecorin“-problem wollen wir hier Josts Schema des vermutlichen Zusammenhanges der genannten Substanzen im lebenden Körper wiedergeben:





Wo in diesem Schema dem hypothetischen Glycerinaldehydphosphat die zentrale Stellung zugeordnet wird, erscheint es interessant, dass das damit isomere Dioxyacetonphosphat schon synthetisch hergestellt und damit der weiteren Forschung zugänglich gemacht ist [Rabinowitch (452)].

Dem Obenstehenden schliessen sich weiter Versuche von Rona und Iwasaki (469) an, die bestätigten, dass der nichtkolloidale hydrolysierbare Phosphorsäureester im Blute nur in den Formelementen und nicht im Plasma vorkommt; weiter, dass die Menge des anwesenden Zuckers grossen Einfluss auf das Verhalten der Blutzellen gegenüber den anwesenden Phosphaten hat, und zwar in dem Sinne, dass Zusatz von Zucker der Aufspaltung des genannten Phosphorsäureesters entgegenwirkt und sogar geradezu die Synthese fördert. So zeigten sich Glucose, Fructose und Mannose wirksam, Galaktose in geringerem Grade, während Disaccharide, Milchsäure und Brenztraubensäure gar keinen Einfluss erkennen liessen; dies alles aber nur in alkalischem Milieu. Unterhalb  $p_H$  7,3 wurde nur Spaltung beobachtet. Synthese und Spaltung sind nach ihnen vollkommen reversibel. Alle Faktoren, die die Veresterung ungünstig beeinflussen, wie  $p_H < 7,3$ , Hämolyse, NaF, hemmen auch die Glykolyse mehr oder weniger vollkommen. Nicht veresterbare Zuckerarten werden auch nicht glykolysiert, das Erste scheint unbedingt notwendig für das Zweite. Doch ist auch hiermit das Mysterium der Glykolyse noch nicht vollkommen aufgeklärt: Häusler (247) sagt, dass beim Zusammenbringen von Menschenerythrocyten mit Glucose nicht nur ein Teil des Zuckers sofort verschwinde, sondern auch gleich in Milchsäure umgesetzt werde. Ist dies richtig, so erscheint es zweifelhaft, ob dabei der beschriebene Mechanismus vollständig durchlaufen wird.

Anhangsweise erwähnen wir in diesem Zusammenhang noch eine ältere Mitteilung von Levene und Meyer (347), die sich hier ganz gut einreihen lässt. Wie wir an anderer Stelle (S. 140) schon zitierten, stellten sie fest, dass, wenn einer Glucoselösung ein Gemisch von Muskelplasma und Pankreasextrakt zugesetzt wurde, das Absinken des reduzierenden Vermögens der Zuckerkonzentration direkt proportional war, und durch Hydrolyse mit Säure das ursprüngliche reduzierende Vermögen wiederhergestellt werden konnte. Demgegenüber war bei Einwirkung von Leukocyten auf eine mit Phosphat gemischte Zuckerlösung die Abnahme des reduzierenden Vermögens der Zuckerkonzentration umgekehrt proportional, und es gelang nicht durch saure Hydrolyse das reduzierende Vermögen wieder zu erhöhen. War kein Phosphat zugegen, so übten die Leukocyten nicht den geringsten Einfluss

auf den daneben anwesenden Zucker aus; das gleiche negative Verhalten zeigte sich, wenn sie mit Toluol vergiftet wurden. Als Produkt dieser von den Leukocyten bewirkten echten Glykolyse wurde Paramilchsäure gefunden, identifiziert durch das Zinksalz. Es wurde aber weniger Milchsäure wiedergefunden als mit der verschwundenen Menge Glucose übereinstimmte; was das Los des Restes war, konnte damals nicht entschieden werden. All diese Versuche sind unter strengster Asepsis und Kontrolle ausgeführt worden.

Obwohl nicht unmittelbar zu unserem jetzigen Gegenstand gehörig, erwähnen wir noch ihren interessanten Befund, dass phlorhizinvergiftete Tiere Glucose ausscheiden, mit Phosphor vergiftete hingegen Milchsäure. Gibt man aber zuerst Phlorhizin und erst dann Phosphor, so findet keine Milchsäureausscheidung statt. Wir wollen uns hier nicht in Spekulationen einlassen; es sei die Tatsache bloss erwähnt, weil es interessant erscheint, sie in Zusammenhang mit dem soeben reproduzierten Jostschen Schema zu betrachten, und auch mit den Befunden, a. a. O. betreffend die Wirkung derselben Gifte auf Hy-S, Leberfett und „Jecorin“ mitgeteilt (S. 127, 161, 228).

## **XII. Kondensation von Hexosen mit Lipinen: „Jecorin“, Galaktolipine.**

### **A. Jecorin.**

Mit der Besprechung dieser „Substanz“ begeben wir uns zweifellos auf gefährliches Gebiet. Erstens sind die Erkennungszeichen zur Feststellung ihrer Identität, die man vor vielen Jahren angegeben hat, ziemlich unscharf und nicht ganz einfach feststellbar, zweitens können — theoretisch wenigstens — verschiedene Modifikationen bestehen, abgesehen dann noch von den weiteren schon geäußerten Bedenken, auf die wir im folgenden noch zurückzukommen haben. Es erscheint also empfehlenswert, die in den nächsten Seiten aufgeführten, meistens sehr alten, experimentellen Tatsachen zu nehmen, für was sie sind, und die Auslegung nur cum grano salis anzunehmen; das „Jecorin“ betrachte man sicherheitshalber als ein Gemisch mehrerer Substanzen von mehr oder weniger übereinstimmenden Eigenschaften, Produkt einer mehr oder weniger uniformen Verarbeitungsmethode, und keinesfalls als ein chemisches Individuum. Und angesichts der Tatsache, dass beim typischen Produkt nach saurer Hydrolyse das reduzierende Vermögen immer höher war als zuvor, muss man es einfach betrachten als eine Fraktion von dem, was wir, ganz allgemein, bisher als Hy-S angedeutet haben.

Jecorin ist, oder, besser gesagt, Jecorine sind nach der ursprünglichen Auffassung (chemische) Verbindungen der verschiedenen Lecithine mit Glucose, oder jedenfalls mit einem Kohlenhydrat. An seinem Aufbau sollten also beteiligt sein: Kohlenhydrat, Glycerin, eine oder mehrere Fettsäuren, Cholin und Phosphorsäure. Tatsächlich wurde von den meisten Forschern bei saurer

Hydrolyse des nach der genannten Herstellungsmethode erhaltenen Produktes eine Steigerung des reduzierenden Vermögens beobachtet, die quantitativ bestimmbar war und der Bequemlichkeit halber als „Glucose“ berechnet wurde. Dies ist der Grund, weshalb wir dieser „Substanz“ wohl einigen Raum widmen müssen.

Die erste Beschreibung des Jecorins rührt von Drechsel (159a) her. Drechsel behandelte fein zerkleinerte Hundeleber mehrmals mit Alkohol. Der erste Auszug, der also neben Alkohol noch viel Wasser enthielt, wurde weggeworfen, die weiteren Extrakte wurden vereinigt und eingengt. Die dann übrigbleibende gelblichbraune Masse, welche also in mässig konzentriertem Alkohol löslich war, wurde in 2—3 Volumteilen absolutem Alkohol aufgenommen; der grösste Teil löste sich, nur ein geringer zusammenklebender Rückstand blieb zurück. Dieser wurde, nachdem der Alkohol abgegossen war, noch einigemal mit frischem Alkohol behandelt. Was dann noch an fester Substanz (die also in konzentriertem Alkohol unlöslich war) übrig blieb, wurde in wasserhaltigem Äther gelöst. Nachdem diese Lösung filtriert war, setzte man dem Filtrat das doppelte Volumen absoluten Alkohols zu: es entstand ein stark flockiger Niederschlag; dieser wurde abfiltriert, einigemal gewaschen und vorsichtig ausgepresst; Lösung in wasserhaltigem Äther und nachfolgende Fällung mittels Alkohol wurden noch mehrmals wiederholt, und schliesslich wurde das Präparat in vacuo über Schwefelsäure getrocknet.

Das so erhaltene „Jecorin“ war eine stark hygroskopische Substanz, unlöslich in wasserfreiem Äther, löslich aber in wasserhaltigem zu einer opaleszierenden Flüssigkeit. An der Luft ging es durch Wasseraufnahme über in eine sirupöse Masse; es war nicht direkt löslich in Wasser, sondern quoll zuerst, unter Bildung von Myelinfiguren, zu einer schleimigen Masse auf, die sich beim Stehen in eine klare obenstehende Lösung und einen Niederschlag trennte; letzterer war nur in einem grossen Überschuss Wasser löslich. Das Jecorin entwickelte beim Auflösen und Kochen einen eigentümlichen seifenartigen Geruch. Die weiteren von Drechsel aufgezählten Eigenschaften sind mehr allgemein kolloidchemischer Natur; es erübrigt sich deshalb, hier näher darauf einzugehen. Es genüge der Schluss, dass die Substanz sich offenbar in Wasser kolloidal löste.

Beim Kochen dieser Lösung mit Fehlingscher Flüssigkeit trat Reduktion ein. Die opaleszierende wässrige Lösung klärte sich nach Zusatz einer Spur Lauge; wurde dann gekocht, so entwichen übelriechende alkalische Dämpfe, und die Flüssigkeit erstarrte zu einem Gel. Bei Hydrolyse mit Säure entwich  $H_2S$ , und es schieden sich dunkelbraune Tröpfchen ab, die mit Hilfe ihres Baryumsalzes als Stearinsäure identifiziert wurden (der Glühräst enthielt etwa 19,49% Ba als Carbonat). Mit Jod zeigte das Jecorin keine Verfärbung.

Drechsel selbst erkannte, dass das reduzierende Vermögen zwar auf die Anwesenheit von Glucose hinwies, dass dies aber erst sicher sei, wenn sie unter den Spaltprodukten völlig identifiziert wäre.

Da, wie gesagt, die Substanz zum ersten Male aus Leber hergestellt wurde, hat man davon den Namen „Jecorin“ abgeleitet.

Diese oder eine ähnliche Substanz hat man im Laufe der Jahre hergestellt aus verschiedenen Organen von allerhand Tierarten, so aus:

Leber (normal): Baldi (12), Jacobsen (280), Manasse (372), Meinertz (391), Siegfried und Mark (489), Baskoff (20, 22), Mayer (384, 385); Leber (pathologisch und autolytisch): Meinertz (390), Waldvogel und Tintemann (531); Milz: Baldi (12); Muskel: Baldi (12); Gehirn: Baldi (12); Nebennieren: Manasse (372); Knochenmark: Biernadsky, zit. nach Baskoff (20). Schliesslich glaubten einige Autoren, es auch gefunden zu haben in Blut: Baldi (12), Jacobsen (279, 280), Henriques (257), Bing (71), Mayer (384, 385).

Inwieweit all diese verschiedene Produkte identisch waren, muss unentschieden bleiben, oder, besser gesagt, sie waren es bestimmt nicht. So glaubte unter anderem Mayer (385), das Leberjecorin von Hunden und Pferden enthalte viel mehr Zucker als das aus Blut hergestellte. Die höchsten Werte fand er bei einem seit 9 Tagen hungernden Hunde.

Einen zweiten Hinweis, dass nicht alles „Jecorin“ identisch sei, glaubte man in den auseinanderlaufenden Ergebnissen der Elementaranalyse erblicken zu können. Schon im Anfang haben diese Unstimmigkeiten zu vielen Meinungsverschiedenheiten Anlass gegeben: da aber diese Werte auch wieder nicht allzusehr auseinander liegen, gewinnt man doch den Eindruck, dass durchaus nicht alles wertlos sei, dass auch auf diesem Gebiet wohl noch etwas Wichtiges versteckt liege. Deshalb wollen wir hier eine kurze Übersicht dieser Analysen folgen lassen. Jecorin enthält somit, ausser dem stets vorhandenen Schwefel und anorganischen Verunreinigungen, in Prozent:

Autor	Präparat	N	P	H	C
Drechsel . . . . .	Pferdeleber	2,86	3,20—3,70	8,20	51,40
Baldi . . . . .	Hundeleber	4,36—4,88	2,29—2,75	7,81—8,09	46,89
Manasse . . . . .	Nebenniere	0,30	4,40	7,20	41,40
Siegfried c. s. . . . .	—	5,20	1,90	6,40	39,70
Waldvogel c. s. I. . . . .	—	8,10—9,80	2,00—3,10	6,40—8,20	34,30—44,20
„ c. s. II. . . . .	—	8,00—9,40	2,00—3,40	7,10—7,80	40,90—42,20
Mayer . . . . .	Pferdeleber	2,60	1,40	4,40	55,80
Baskoff . . . . .	Pferdeleber	3,12	2,89	7,29	50,39
Biernadsky (20) . . . . .	Knochenmark Hund	2,67	2,88	7,68	48,63

Man sieht: die verschiedenen Werte stimmen zu schlecht überein, als dass sie für eine identische Substanz gelten könnten, aber zeigen doch wieder

soviel Übereinstimmung, dass diese nicht bloss Zufall sein kann. Auch andere Eigenschaften, wie z. B. das Verhalten vor und nach Hydrolyse mit Säure, deuten darauf hin, dass das Produkt der beschriebenen Herstellungsmethode, von verschiedenen Autoren aus verschiedenen Organen erhalten, gewiss nicht eine und dieselbe Substanz war. So erhielten ein

vor Hydrolyse schon reduzierendes Jecorin: aus Blut: Baldi (12), Manasse [Pferd (372)]; aus Leber: Baldi [Kaninchen, Hund (12)], Jacobsen [Kaninchen (280)], Siegfried c. s. [Pferd (489)], Meinertz [Pferd (391)] (im letzten Falle verstärkte Hydrolyse das reduzierende Vermögen nicht); aus Milz: Baldi [Rind (12)]; aus Muskel: Baldi [Pferd (12)].

Ein vor Hydrolyse nicht reduzierendes Jecorin wurde hergestellt: aus Nebennieren von Manasse (372); aus Leber von Meinertz [Pferd (391)] (ausnahmsweise) und Jacobsen [Kaninchen (280), zweifelhaft].

Ein nach Hydrolyse stärker reduzierendes Jecorin fanden: in Leber: Manasse [Pferd (372)], Jacobsen [Kaninchen (280)].

Ein nach Hydrolyse nicht stärker reduzierendes Jecorin endlich wurde isoliert: aus Leber von Baskoff (20), Jacobsen (280); aus Nebenniere von Manasse (372). Im letzten Falle wurde die Substanz durch zwei-stündiges Kochen mit  $2\frac{1}{2}\%$ iger Schwefelsäure am Rückflusskühler nicht angegriffen; erst nach fünf-stündigem Erhitzen auf  $130^{\circ}$  in einer zugeschmolzenen Röhre trat reduzierendes Vermögen auf. Auch nach monatelangem Trocknen blieb sie noch immer unlöslich in Äther. Trotz dieses abweichenden Verhaltens lieferte die Substanz bei alkalischer Hydrolyse doch gleichfalls Fettsäuren, Glycerinphosphorsäure und Cholin, und nach der obengenannten kräftigen Spaltung mit Säure eine geringe Menge „Osazon“, von der aber kein Schmelzpunkt bestimmt wurde.

Diese letzte Gruppe, die für die uns beschäftigende Frage bedeutungslos ist, können wir weiter vernachlässigen.

Bei Verseifung des Jecorins aus Pferdeleber mit Baryt (einstündiges Kochen der damit gesättigten Lösung) erhielt Manasse (372) Cholin, Glycerinphosphorsäure und Fettsäuren vom Schmelzpunkt  $58-60^{\circ}$ . Letztere sind es auch, die bei der Bestimmung des reduzierenden Vermögens mit den alkalischen Kupferlösungen von Fehling oder von Folin-Wu in solchen Produkten dazu Anlass geben, dass oft die ganze Masse zu einem Seifengel erstarrt [Baldi (12)], wie auch wir selbst es wiederholt beobachtet haben. Demgegenüber soll es Baskoff (20) gelungen sein, aus Leber ein fettsäurefreies Jecorin herzustellen, das sehr viel reduzierende Substanz enthielt, ebenso relativ viel N, aber wenig P.

Bei 10 Minuten dauernder Hydrolyse mit  $2\frac{1}{2}\%$ iger Schwefelsäure schied sich in Manasses (372) Versuchen eine braune, harzartige, leicht in Äther lösliche Substanz ab, während das klare Filtrat stärker reduzierte als zuvor und ein Osazon vom Schmelzpunkt  $203-204^{\circ}$  lieferte, das schon in der Wärme

ausfiel; von einem erst in der Kälte auskrystallisierenden Osazon nahm er nichts wahr.

Mayer (384) hat das Pferdeleberjecorinosazon genau untersucht: sowohl der Schmelzpunkt als die chemische Zusammensetzung stimmten genau mit denen des Phenylglucosazons überein. Das reduzierende Vermögen seines Präparates entsprach vor Hydrolyse 10, nach Hydrolyse 18% seines Gewichts an Glucose. In vollkommen bakterienfreien Vergärungsversuchen zeigte sich dieses Jecorin einigermassen vergärbare, in 4—5%iger Lösung sogar sehr deutlich. Nach ihm sei der Zucker in dieser Verbindung viel fester gebunden als im synthetischen Lecithinzucker.

Baskoff (20) fand regelmässig nach saurer Hydrolyse ein reduzierendes Vermögen entsprechend einem Glucosegehalt von etwa 14%.

Auch Meinertz (391) hat untersucht, wie stark die Bindung des Zuckers wohl sei. Durch Hefezusatz gelang es ihm nicht, die reduzierende Komponente aus dem Jecorin zu entfernen. Bei Zusatz von verdünnter Salzsäure in der Kälte aber entstand in der Lösung ein dicker Niederschlag, während die reduzierende Komponente in Lösung blieb, neben Phosphorsäure und viel Kalk. Die reduzierende Komponente dialysierte und lieferte ein Osazon, dessen Schmelzpunkt er aber leider nicht angibt. Den starken Erfolg einer so wenig eingreifenden Behandlung, wie es der Zusatz verdünnter Säure in der Kälte ist, betrachtete er als einen Hinweis, dass das Jecorin nicht eine einheitliche Substanz sei, sondern ein Gemisch von allerhand organischen und anorganischen, N-haltigen und N-freien Substanzen, die möglicherweise in lockerer chemischer Bindung vereinigt seien, und unter denen Lecithin die führende Rolle spiele.

Diese Auffassung wurde gestützt durch die Mitteilung von Siegfried und Mark (489), dass es ihnen mit einfachen, nicht eingreifenden Mitteln gelungen sei, Pferdeleber„jecorin“ in verschiedene, stark auseinanderlaufende Fraktionen zu zerlegen. Diese Autoren geben aber selbst zu, dass sie für die Herstellung ihres Jecorins nicht die Originalmethode Drechsels, sondern eine eigens bedachte Variante benutzt haben; das könnte wohl der Grund sein, weshalb ihr Präparat einige abweichende Eigenschaften darbot. (Es löste sich in Wasser sofort klar, gab mit Salzsäure keine Trübung, reduzierte aber wohl alkalische Kupfer- und ammoniakalische Silberlösungen.) Viel Beweiskraft besitzen also ihre Argumente nicht.

Auch früher schon hatte man aber die Individualität des Jecorins bezweifelt. Schon 1887 äusserte Baldi (12) den Gedanken, das Jecorin aus der Leber sei nur das Prototyp einer ganzen Reihe von Verbindungen. Tatsächlich gelang es viele Jahre später Bing (72), synthetisch zahlreiche ähnliche Verbindungen herzustellen; die dabei erhaltenen Reaktionsprodukte verhielten sich durch ihre auffallenden Eigenschaften seines Erachtens deutlich wie Verbindungen und nicht wie Gemische. Dennoch schienen Kombinationen

in wechselnden molekulären Verhältnissen möglich, und es fielen die erhaltenen Verbindungen auch leicht wieder auseinander. Nach Bing ist das natürliche Jecorin ebenso ein Gemisch verschiedener Lecithinverbindungen, unter denen meistens tatsächlich Lecithinglucose überwiegt, worunter aber auch „Verbindungen“ des Lecithins mit Natriumlactat, Kochsalz usw. vorkommen sollten. Ihr gemeinschaftliches Kennzeichen sei nur, dass sie sich glatt in Alkohol oder Äther lösen, aus dieser Lösung durch Zusatz weiterer Mengen desselben Lösungsmittels wieder gefällt werden, um sich schliesslich in Überschuss derselben Flüssigkeit wieder aufs neue zu lösen.

Mayer (384) hat gleichfalls synthetischen Lecithinzucker untersucht; auch nach seinen Erfahrungen stimmte das Reaktionsprodukt in seinen Eigenschaften auffallend mit Jecorin überein. Es wurde von konzentrierter Kochsalz- oder  $\text{BaCl}_2$ -Lösung ebenso wie von  $\text{AgNO}_3$  gefällt; im letzten Falle klärte sich die Lösung wieder auf Zusatz von Ammoniak und rötete sich dann beim Erhitzen. Die Lösung reduzierte alkalische Kupferlösung stark, vergor aber gleichfalls stark, zum Unterschied vom Naturprodukt; weiter lieferte es ein Osazon vom Schmelzpunkt  $205^\circ$ . Auf Grund dieser letzten Besonderheiten zweifelt er doch stark, ob tatsächlich eine chemische Verbindung vorliege, um so mehr als sie auch ohne Säure leicht zerfalle.

Schliesslich hat auch Baskoff (20, 21) synthetische Lecithinglucose hergestellt und sie mit Pferdeleberjecorin verglichen. Er betrachtet das Produkt als eine Gruppe von Verbindungen der Glucose mit Abbauprodukten des Lecithins. Mayer und Terroine (383) glauben, das Leberjecorin bestehe aus Eiweiss, Lecithin und Glucose; ihrer Meinung nach entstehe es durch gleichzeitige Fällung von Lecithalbumin und Glucose und sei also ein Gemisch oder höchstens eine Adsorptionsverbindung. Auch nach ihnen seien solche Verbindungen leicht künstlich herstellbar.

Ist also betreffs der chemischen und physikalischen Eigenschaften, ja sogar über die Individualität des Jecorins noch keineswegs Einigkeit erreicht, nicht viel besser steht es um die Kenntnis seiner Rolle unter physiologischen Umständen bzw. unter dem Einfluss von physikalischen und chemischen Agenzien, wirkend auf den lebenden Organismus. Dennoch besteht die Möglichkeit, dass hier noch viel Wichtiges versteckt liege, sei es auch, dass vielleicht im Lichte unserer neueren Kenntnisse die Deutung der beobachteten Tatsachen eine andere sei, als die beobachtenden Forscher damals meinten.

So könnte sehr wichtig sein der alte aber wenig bekannte Befund von Waldvogel und Tintemann (531), dass an allerhand Gewebsverfettungen (unter Einfluss von verschiedenen Giften im Experiment, und gleichfalls in der Pathologie, bei „fettiger Degeneration“ von Organen), kein Fett im engeren Sinne beteiligt sei, sondern, dass dort Jecorin abgelagert werde. (Ihren Befund, dass Jecorin sich auch bei Autolyse von Organen bilde, können wir hier, als ausserhalb unseres heutigen Gegenstands liegend,

beiseite lassen.) Die genannte Ablagerung von Jecorin glaubten sie feststellen zu können in 18 analysierten Organen: Lebern und Milzen von Menschen und Hunden; auch bei verschiedenen Verarbeitungsmethoden war immer das Ergebnis dasselbe. Immer zeigte sich das Endprodukt cholinartig; nach saurer Hydrolyse lieferte es Stearinsäure und ein Osazon vom Schmelzpunkt 203—204°. Die Anwesenheit von Pentosen konnte im Endprodukt nicht demonstriert werden. Das Jecorin selbst war unvergärbbar, wurde es aber aus der wässrigen oder alkoholischen Lösung nicht mit der drei- bis vierfachen, sondern mit der sieben- bis achtfachen Menge Aceton gefällt, so war es mit freier Glucose verunreinigt und zeigte mit Hefe wohl Kohlensäureentwicklung. Der Hexosegehalt im Jecorin betrug 17,7—24,2%; es wurden aber auch Präparate ohne reduzierende Komponente erhalten. Doch konnte ihres Erachtens die in weitaus den meisten Fällen gefundene Glucose keine Beimischung sein, denn erstens waren die Werte zu gleichmässig, zweitens war das Jecorin nicht vergärbbar ohne vorherige saure Hydrolyse, und drittens war es nicht rechtsdrehend. Das nichtreduzierende Jecorin wurde zweimal aus Milz erhalten. Waldvogel c. s. betrachteten das Jecorin als ein Abfallprodukt, als „Schlacken“ des Protoplasmas. Von den weiteren Eigenschaften nennen sie noch die Tatsache, dass es von Aceton in weissen Flocken gefällt wird, ebenso wie Lecithin sich äusserst leicht zersetzt, sich im Lichte bräunt, oft hygroskopisch ist, und sich in Wasser löst zu einer klaren Lösung, die von HCl nicht getrübt wird. Es sei in absoluten Alkohol und Äther fast unlöslich, gut löslich aber in wasserhaltigem Alkohol. Es bestehen also gewisse Unterschiede mit den von Drechsel ursprünglich mitgeteilten Eigenschaften.

Das wichtigste pharmakologische Agens, das den Jecoringehalt der Organe merkbar beeinflussen soll, und zwar im Sinne einer erheblichen Zunahme, sei der gelbe Phosphor. Dies entdeckten Waldvogel c. s. (531), nachdem schon zuvor Stolnikow (516) beobachtet hatte, dass bei mit dieser Substanz vergifteten Fröschen das Leberglykogen verschwindet, das Leberlecithin hingegen einen enormen Zuwachs zeigt. Zwar hat Meinertz (390) die Befunde Waldvogels kritisiert, aber in einer so wichtigen Frage kann nur eine eingehendere Widerlegung Wert haben.

Jedenfalls vergleiche man dies alles mit dem, was wir oben betreffs der Organverfettungen referiert haben, und auch mit dem neueren Beitrag von Ivančević (277). Diesen wollen wir hier nicht näher anführen; nur machen wir auf seinen wichtigen Befund aufmerksam, dass bei der Phosphorvergiftung bei normalem Blutzuckergehalt oft eine sehr ausgesprochene Muskelschwäche bestehe. Dies lässt an eine Beziehung zu den bekannten bei der Muskelkontraktion sich abspielenden chemischen Prozessen denken.

Das Vorkommen von jecorinartigen Substanzen im Blute hat vor vielen Jahren eine Reihe von Forschern beschäftigt. Allmählich aber trat die

Frage in den Hintergrund, so dass sie jetzt kaum mehr erwähnt wird; doch vielleicht zu Unrecht.

Baldi (12) war 1887 der erste, der aus alkoholischem Extrakt von frischem Pferdeblut ein Jecorin herstellte, das sehr stark reduzierte, dabei nicht so viel Seife abspaltete als Leberjecorin, und ausser 1,66—1,86% Schwefel, noch 1,87—1,88% Phosphor enthielt. Nach Mayer (385) aber enthalte Blutjecorin gerade sehr viel weniger Zucker als das aus der Leber.

Auch Jacobsen (279) glaubte konstant im Blute Jecorin zu finden, oder jedenfalls eine nicht vergärbare, in Äther lösliche, reduzierende Substanz, die dieselben Reaktionen zeigte, die Drechsel als charakteristisch für sein Leberjecorin angegeben hatte, d. h. Färbung mit  $\alpha$ -Naphthol und  $H_2SO_4$ , weinrote Farbe beim Erhitzen mit  $AgNO_3$  und Ammoniak, Fällung in unlöslicher Form durch die Salze der Schwermetalle, in oft teilweise löslicher Form beim Erwärmen mit konzentrierten Lösungen anderer Salze, wie  $MgSO_4$ . Die in Äther löslichen reduzierenden Substanzen und die nach Vergärung übrigbleibende Restreduktion zeigten quantitativ eine auffällige Übereinstimmung. Bei zwei Rinderblutproben waren 20—40% der reduzierenden Substanzen in Äther löslich.

Jacobsens Herstellungsmethode wollen wir hier kurz wiedergeben, weil sie, wenigstens in den ersten Stadien, grosse Übereinstimmung zeigt mit der von Pavy zur Herstellung seines „protein sugar“ und der von uns selbst zur Isolierung der Hy-S in einigen Versuchen verwendeten Technik:

Das Blut wurde in etwa das siebenfache Volumen 96%igen Alkohols ausgegossen, nach 12 Stunden filtriert, der Rückstand noch zweimal in gleicher Weise extrahiert. Die filtrierten Extrakte wurden vereinigt, und bei 45—50° in vacuo eingeengt bis zur Trockne. Der so erhaltene Rückstand wurde wiederholt mit wasserhaltigem Äther extrahiert; auch diese Extrakte wurden vereinigt und bis zur Trockne eingedunstet. Was dann zurückblieb, das „Jecorin“, wurde in warmem Wasser gelöst: es war eine mehr oder weniger gefärbte milchige Flüssigkeit, die reduzierende Eigenschaften zeigte und deshalb quantitativ bestimmt werden konnte. In den in Wasser gelösten, durch Kochen mit verdünnter Essigsäure enteissten Rückständen kann man dann in gleicher Weise den freien Blutzucker quantitativ bestimmen.

In einer späteren Publikation (280) hat Jacobsen seine Befunde nochmals bestätigt; wiederum spricht er nachdrücklich von den ätherlöslichen Substanzen des Blutes, und teilt als Beispiel für den Gehalt in arteriellem und venösem Blut folgende merkwürdige Zahlen mit, bei denen das Reduktionsvermögen als Glucose berechnet wurde:

	Ätherischer Extrakt	Rückstand nach Extraktion mit Äther	Zusammen	Ätherlöslich
Arteriellcs Blut . . . . .	0,43 pro mille	0,23 pro mille	0,66 pro mille	65%
Venöses Blut . . . . .	0,20 „ „	0,52 „ „	0,72 „ „	28%

Nach Hydrolyse von Rinderblut mit Schwefelsäure war die reduzierende Substanz nicht länger ätherlöslich. Zusammenfassend betrachtet er das Vorkommen einer sowohl vor als nach Hydrolyse reduzierenden ätherlöslichen Substanz als sicher, dagegen das Vorkommen einer ätherlöslichen Substanz die vor Hydrolyse nicht, wohl danach aber reduziert, als nur wahrscheinlich. Doch vermeidet er absichtlich den Gebrauch des Namens „Jecorin“, weil dieser seiner Meinung nach vielleicht ein Laboratoriumsprodukt bezeichne.

Henriques (257) hat nahezu dieselbe Technik benutzt, und auch er fand in Hunde- und Kaninchenblut den in dieser Weise bestimmten freien Blutzucker immer viel niedriger als den Jecorinzucker. Nach wiederholten Blutverlusten trat bei Hunden sogar noch ein viel stärkeres Überwiegen der „Jecorin“fraktion auf, während demgegenüber bei Kaninchen unter denselben Umständen dann gerade der freie Blutzucker stark anstieg. Doch macht es auch hier einen sonderbaren Eindruck, wenn er z. B. angibt, er habe bei einem Hunde wiederholt und mit vollkommener Übereinstimmung zwischen den Doppelbestimmungen einen Gehalt an freiem Zucker von 0,08—0,14 pro mille gegen einen „Jecorinzuckergehalt“ von 0,40—0,99 pro mille beobachtet. Auch erwähnt er den Befund, dass man bei Extraktion mit warmem, fast absolutem Alkohol viel mehr freien Zucker findet, was seines Erachtens auf Spaltung des Jecorins beruhen könnte. Als Beispiel teilt er folgenden Befund am arteriellen Blute eines morphinisierten Hundes mit:

	Freier Blutzucker	Jecorinzucker
In der Wärme extrahiert (45°) . . . . .	1,15 pro mille	0,28 pro mille
Bei Zimmertemperatur extrahiert . . . . .	0,35 „ „	1,35 „ „

Wenn dies alles richtig ist, könnte man aber ausser an der vom Autor zur Erklärung herangezogenen Möglichkeit noch an verschiedene andere denken, wie bessere Extraktion, Lösung einer Adsorption usw. Wie dem auch sei, es stimmt sein zweiter Befund mit denen Pavys überein, der, auch bei etwa 40° arbeitend, gleichfalls dann nahezu allen Blutzucker frei und nicht in einer vermeintlichen Jecorinfraktion fand.

Der nächste Autor, der sich mit dem Problem beschäftigt hat, und zwar in sehr ausführlicher Weise, ist Bing (71). Auch er folgte wieder mit geringen Änderungen der Technik von Jacobsen und Henriques:

Blut wurde dreimal hintereinander mit einer reichlichen Menge Alkohol extrahiert; die Extrakte wurden vereinigt, bis zur Trockne eingeengt, der Rückstand mit einem Gemisch von 1 Teil wasserhaltigem und 2 Teilen trockenem Äther ausgezogen, der ätherische Extrakt eingeengt, und sodann mit 2%iger Schwefelsäure hydrolysiert. Nach Neutralisierung wurde dann das reduzierende Vermögen der Flüssigkeit bestimmt; der erhaltene Wert war also der des „Jecorinzuckers“. Der nach der ätherischen Extraktion hinterbliebene Rückstand wurde gleichfalls in Wasser gelöst, und auch in dieser Lösung liess sich das reduzierende Vermögen bestimmen; dies zeigte dann den freien Blutzuckergehalt an.

Es zeigt sich aus den von Bing mitgeteilten Zahlen, dass auch seine Befunde mit denen seiner Vorgänger übereinstimmen; so findet er als Normalwerte: einen freien Blutzucker von 0,08 pro mille neben einem Jecorinzucker-gehalt von 0,56 pro mille, einen freien Blutzucker von 0,12 pro mille neben einem Jecorinzucker-gehalt von 0,57 pro mille, usw.

Auch er hat einzelne experimentelle Variationen studiert. So sah er nach Nackenstich sowohl den freien als den Jecorinzucker ansteigen; noch viel stärker war dies der Fall nach Pankreasekstirpation. Und auch beim klinischen Diabetes zeigte sich das gleiche Verhalten, wie aus den von Bing mitgeteilten Befunden von Henriques hervorgeht:

Diabetiker	Freier Blutzucker pro mille	Jecorinzucker pro mille
Weib . . . . .	0,27	2,21
Mann . . . . .	0,72	4,24
Mann, komatös . . . . .	1,28	1,25
Weib . . . . .	0,25	2,05
Knabe . . . . .	0,17	1,15

Es sei sogleich darauf hingewiesen, dass diese Befunde keineswegs stimmen zu den Befunden sowohl der Autoren, die bei dieser Krankheit die Hy-S bestimmt haben, als zu denen von Loewi und seinen Schülern, nach denen bei Diabetes das Adsorptionsvermögen der Blutzellen für Glucose sehr stark erniedrigt sei.

Im Gegensatz zur erwähnten Steigerung bei Diabetes fand Bing bei Phlorhizinvergiftung von Hunden normale Jecorinzuckerwerte:

	Freier Blutzucker pro mille	Jecorinzucker pro mille
Hund I . . . . .	0,20	0,56
Hund II . . . . .	0,32	0,45
Hund III . . . . .	0,28	0,43
Hund IV . . . . .	0,06	0,43

Die Bedeutung all dieser auffälligen Befunde ist nicht ohne weiteres klar. Eines geht aber deutlich daraus hervor: entweder all diese Ergebnisse sind Artefakte, Folgen eines nicht erkannten Mangels der Technik, oder sie sind wohl richtig, und dann sind all unsere Methoden zur Bestimmung des „freien“ Blutzucker-gehalts fehlerhaft. Dass man bei den üblichen Blutzuckerbestimmungsmethoden viel höhere Werte findet, beruhe nach Bing darauf, dass bei allen diesen die äusserst labilen Kohlenhydratlecithinverbindungen schon in ihre Komponenten zerfallen. Dies einwandfrei zu entscheiden, wird keineswegs leicht sein.

Auch bald nach intravenöser Glucoseinjektion wurde ein beträchtlicher Teil davon in der ätherlöslichen Fraktion wiedergefunden; dieselbe Erscheinung trat sogar bei Zusatz von Glucose zu Blut in vitro zutage. Bing fragte sich nun, welche Substanzen für eine solche Glucosebindung in Betracht kämen. Eiweiss konnte seines Erachtens ausgeschlossen werden, weil die Erscheinung sich auch in alkoholischem Milieu zeigte. Demgegenüber glaubte er, dass Lecithin wohl am genannten Prozess beteiligt sei. Tatsächlich gelang es ihm, auch mit Eidotterlecithin die gleiche Erscheinung zu beobachten: ein Teil des Zuckers blieb frei, der Rest aber wurde ätherlöslich und zeigte erst wieder sein volles reduzierendes Vermögen nach Hydrolyse mit Säure. (Er nennt hier 20%ige Schwefelsäure, aber, da sonst immer 2%ige Säure zur Verwendung kam, wird auch hier wohl diese gemeint sein!). Beide Produkte flockten in typischer Weise aus alkoholischen Lösungen mit Äther und umgekehrt, um im Überschuss des fallenden Reagens sich wieder zu lösen; beide auch waren löslich in Benzol und zeigten noch in anderen Punkten Übereinstimmung.

Weiter gelang es ihm, analoge Verbindungen herzustellen zwischen Lecithin einerseits und Fructose, Galaktose, Arabinose, Lactose, Maltose und Saccharose andererseits, nicht aber mit Glykogen oder Stärke. Die erhaltenen Produkte verhielten sich gegenüber Lösungsmitteln ganz wie „Jecorin“; auch zerfielen sie wieder leicht in ihre Komponenten, z. B. wenn sie bei 42° eingengt wurden. Die Zahl der Molen Zucker, die in den verschiedenen Fällen pro Mole Lecithin gebunden wurde, schien aber stark zu wechseln.

Weiter machte Bing darauf aufmerksam, wie von chemischer Seite ganze Reihen von Glucose-Fettsäureverbindungen beschrieben und hergestellt worden sind, wie z. B. Distearyl-Glucose (vgl. S. 124); weiter Glucose-Phosphorsäure, Glyceringlucosid usw.; dies zum Beweis, wie all diese Verbindungen ineinandergreifen können. Es wird aber hierbei immer vorausgesetzt, dass die reduzierende Substanz Glucose sei; Bing selbst aber gibt zu, dass eine vollständige Identifikation der aus der Lecithinverbindung des Blutes abgespaltenen Substanz bis dahin noch nie ausgeführt war.

Weiter bespricht er noch das „Protagon“, das Galaktose als Kohlenhydrat enthält; darauf kommen wir sofort noch zurück.

Schliesslich hat auch Bing sich gefragt, ob nicht Jecorin ebenso wie Protagon Laboratoriumsartefakte seien, obwohl es seines Erachtens schwer falle anzunehmen, dass zwei so leicht sich verbindende Substanzen im Plasma frei nebeneinander vorkommen sollten. Um dies zu prüfen, versuchte er, Blut direkt mit Äther zu extrahieren; zu seinem Erstaunen aber löste sich darin weder Lecithin noch Jecorin. Gleichfalls negativ war sein Ergebnis, wenn er Blut, dem zwecks Vermeidung von Glykolyse Kaliumoxalat zugesetzt war, bis zur Trockne einengte und dann mit Äther auszog. Seines Erachtens ist hiervon Ursache, dass das Lecithin und seine Verbindungen ausserdem noch

an Eiweiss gebunden seien, und dass an allererster Stelle diese Bindung gelöst werden müsse. Seine Dialysiersversuche, bei denen sowohl die freie Glucose als der Jecorinzucker die Membran passierte, konnten die Entscheidung nicht herbeiführen, weil Bing selbst vermutet, dass dabei Zerfall aufgetreten sei.

Es war den verschiedenen Autoren schon aufgefallen, dass die Jecorinpräparate immer S und Na enthielten; nach Mayer (385) stammt letzteres von einer Verunreinigung mit NaCl, und er erwartete, dass vom Schwefel sich gleichfalls herausstellen würde, dass er eine Verunreinigung sei. Seine aus Blut hergestellten Präparate wiesen einen viel geringeren S- und P-Gehalt auf, als die aus Leber bereiteten.

Hier scheint es uns auch angebracht, kurz die „Glucothionsäure“ zu erwähnen, die von Mandel und Neuberg (375) hergestellt wurde. Auch mit diesem Namen wurde eine Substanz belegt, die keineswegs als chemisches Individuum, sondern nur als Endprodukt einer bestimmten Herstellungsmethode gelten kann. Sie wurde aus allerhand Organen erhalten, zeigte wechselnde Elementarzusammensetzung und war nur dadurch charakterisiert, dass sie konstant neben einer oder mehreren Kohlenhydratgruppen  $\text{SO}_4$  enthielt, und nach saurer Hydrolyse die Fehlingsche Lösung zu reduzieren imstande war. Man sieht: auf Grund dieser Eigenschaften könnten „Jecorin-“ und „Glucothion“präparate wenigstens zum Teil identisch sein, wenn auch die Herstellungsmethoden beträchtliche Unterschiede aufwiesen.

Die Glucothionsäure wurde von Mandel c. s. hergestellt aus Sehnenmucin, Milz, Mamma, Niere; die von jedem dieser Präparate angegebenen Besonderheiten können wir hier unerwähnt lassen. Das aus Niere hergestellte Präparat wies nach saurer Hydrolyse einen beträchtlichen Gehalt an Phosphat auf. Nach zehnstündigem Kochen am Rückflusskühler mit 2%iger Schwefelsäure waren die Reaktionen nach Molisch und nach Tollens (Orcin) positiv, bei Destillation mit HCl wurde eine Ausbeute von etwa 5% Furfurol erhalten. Das Hydrolysat reduzierte Fehlingsche Lösung stark, vergor aber nicht: Glucose war also nicht zugegen, aber es konnte wohl die Anwesenheit einer N-freien Kohlenhydratsäure gezeigt werden, die eine positive Orcinreaktion aufwies, ebenso wie eine positive Naphthoresorcinprobe, und mit  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  ein unlösliches basisches Salz lieferte. Mandel c. s. dachten an die Möglichkeit, dass dies Glykuronsäure sei, und tatsächlich erwies sich dies später als zutreffend: es hat sich herausgestellt, dass die „Glucothionsäure“ identisch ist mit der besser bekannten Chondroitinschwefelsäure [Levene (344)], die keine echten Zucker, sondern Glykuronsäure und Chondrosamin enthält (s. S. 183 usw.).

Kehren wir nochmals zum „Jecorin“ zurück. Die oben erwähnte Selbstkritik Bings ist von Mayer (389) noch akzentuiert worden. Viele Jahre

nachher hat er selbst nochmals, nach Drechsels ursprünglicher Technik, Blut von Pferden, Rindern und Hunden verarbeitet (384, 385). Das Ergebnis war, dass aus beiden ersten Blutarten ein Produkt erhalten wurde das weder vor noch nach saurer Hydrolyse reduzierte; auch spaltete Emulsin aus dem Rinderblutjecorin keinen Zucker ab (vgl. S. 146 usw.). Das aus Hundeblood dargestellte Präparat aber reduzierte stark, und es konnte festgestellt werden, dass seine reduzierende Komponente tatsächlich Glucosazon lieferte: Schmelzpunkt und chemische Analyse stimmten damit. Doch schätzt er den Gehalt des Blutes an Jecorinzucker viel niedriger als seine Vorgänger: er soll nur  $2\frac{1}{2}$  bis höchstens 5% des freien Blutzuckers betragen.

Später ist er aufs neue ins Schwanken geraten (387), und hat unter anderem darauf aufmerksam gemacht, dass auch Glykuronsäure, wie er glaubt, ätherlöslich ist (384).

Dies waren die letzten experimentellen „Jecorin“-forschungen. Weiter hat man die Sache ruhen lassen, ohne dass versucht wurde, zu einer definitiven Lösung dieser doch so wichtigen Probleme zu kommen. 1911 äusserten Lépine und Boulud (342) nochmals die Möglichkeit, dass das Jecorin Teil ausmache der Hy-S, wenn auch die Menge ihrer Meinung nach viel geringer sei als z. B. Henriques meinte. Bang (13, S. 39) erwähnt das Jecorin noch beiläufig, glaubt aber, dass es Kunstprodukt sei, und sieht deshalb von einer eingehenderen Besprechung ab.

Mittlerweile aber machte die Chemie des Lecithins, und die der Lipine im allgemeinen beträchtliche Fortschritte; dies hatte zufolge, dass nun auch eine bessere Einsicht in die Möglichkeiten von der chemischen Reaktion zwischen Kohlenhydraten einerseits und Lipinen andererseits erhalten wurde. Deshalb ist es äusserst interessant, einmal zu sehen, wie die „Jecorin“-lehre in den Rahmen der modernen Lipoidchemie sich einfügen lässt. Der schönen Monographie von H. und I. S. Maclean (364) sei hier deshalb noch einiges entnommen.

Erstens weisen diese Autoren mit Recht darauf hin, dass Jecorin eigentlich der Hauptsache nach dadurch charakterisiert ist, dass es Endprodukt ist einer bestimmten Herstellungsmethode, mit einigen sehr allgemeinen Eigenschaften; dass weiter niemals vollständige Elementaranalysen des Blutjecorins veröffentlicht worden sind. (Genau dasselbe gilt aber unseres Erachtens auch für den allgemein akzeptierten „Blutzucker“.) Ob diese Gründe aber genügen, um alle diesbezüglichen Beobachtungen und alle in den vorigen Seiten aufgeführten mühevollen Untersuchungen als „vollkommen wertlos“ beiseite zu schieben, wird vielleicht erst die Zukunft zeigen. Denn, welches auch die Auslegung sein möge, das Tatsachenmaterial wird man akzeptieren müssen, solange nicht unzweideutig erwiesen ist, dass die Versuche selbst irrig waren.

Wie dem auch sei, auch Maclean c. s. sind zur Überzeugung gelangt, dass „Jecorin“ (und damit meinen sie dann offenbar nur dasjenige aus Leber

und anderen Organen, vorausgesetzt die angebliche Wertlosigkeit der diesbezüglichen Befunde in Blut) ein Gemisch sei. Ein Gemisch aber, in dem echte Lecithinglucose nahezu vollkommen fehle, in dem aber die wichtigste Stelle eingenommen werde vom Kephalin (einem Lipin von ähnlichem Aufbau wie das Lecithin, in dem aber das Cholin durch Aminoäthylalkohol ersetzt ist.) Dieses Kephalin aber nehme allerhand Substanzen ebenso glatt in physikalischer Bindung auf, wie dies Lecithin tut. Deshalb betrachten sie Jecorin als Kephalinglucose (wie seinerzeit auch Frank (210) schon vorgeschlagen hatte), mit eventuell beigemischten kleinen Mengen Lecithinglucose, anorganischen Salzen, Galaktolipinen, „Protagon“, Zucker, Glykogen und anderen durch Adsorption, gegenseitige Löslichkeit usw. schwer trennbaren Substanzen.

Übrigens glauben wir hier als unsere persönliche Meinung aussprechen zu dürfen, dass es für unsere eigenen Probleme vorläufig ziemlich gleichgültig ist, ob ein gewisser Bestandteil der Hy-S am anderen Ende des Atomkomplexes noch eine Cholin- oder eine Aminoäthylalkoholgruppe trägt, wenn auch natürlich jede Präzisierung willkommen ist. Aber am Kern der Sache ändert dies nichts, und es wäre vielmehr wünschenswert, das tatsächliche Vorkommen solcher Substanzen im allgemeinen jetzt, nachdem schon 40 Jahre darüber geredet ist, einmal einwandfrei und mit moderner Technik zu erweisen, als jetzt schon, noch ehe dies der Fall, Schreibtischüberlegungen über ihre genaue Struktur zu veröffentlichen. Denn der Meinung Macleans scheint kein einziges eigenes Experiment zugrunde zu liegen.

## B. Galaktolipine.

Während wir im vorangehenden den grösstenteils noch hypothetischen Glucolipinen, den „Jecorinen“, grossen Raum haben widmen müssen, bleibt uns jetzt noch eine chemisch weit besser bekannte, und zumindestens ebenso wichtige Gruppe von Substanzen zu betrachten: die Galaktolipine. Diese umfasst diejenigen Lipine, die keinen Phosphor enthalten, und bei Hydrolyse mit Säure den reduzierenden Zucker Galaktose liefern [s. Maclean (364) S. 94 usw.].

Anfänglich hauptsächlich im Gehirn angetroffen und deshalb als Cerebroside bezeichnet, liessen sie sich später auch aus allerhand anderen Organen isolieren. So hat man sie mit grösserer oder geringerer Sicherheit identifizieren können in Leber und Niere [Levene und West (348)], in Nebennieren [Rosenheim und Tebb (471)], in Rindermilz [Walz (532)]. Auch in Blut glaubte man ihre Anwesenheit zeigen zu können [Bang und Forsmann (14), Pascucci (430)].

Die bis jetzt genau bekannten Galaktolipine sind Phrenosin und Kerasin, die sich in ihrem Aufbau nur dadurch unterscheiden, dass sie verschiedene Fettsäuren enthalten. Phrenosin dreht polarisiertes Licht nach rechts, Kerasin nach links. Beide zeigen sie eine positive Orcinreaktion, die in diesem Falle nicht von der Anwesenheit von Pentose, sondern von der der

Galaktose herrührt. Phrenosin reduziert Fehlingsche Lösung nur, wenn es vorher mit Säure hydrolysiert wurde [Maclelean (l. c. S. 104), Rosenheim (470)].

Die Galaktose hat man erst endgültig dadurch identifiziert, dass man ihr charakteristisches Methylphenylosazon hergestellt hat, und ausserdem bei Oxydation Schleimsäure entstehen sah [Maclelean (l. c., S. 111)]. Noch vor kurzem haben Pryde und Humphreys (448) sich nochmals davon überzeugt, dass die aus frischem Rinderhirn hergestellten Cerebroside nur Galaktose und keinen anderen Zucker, enthalten; für ihre Technik sei auf das Original verwiesen. Walz (532) gelangte jüngst zum selben Ergebnis und zwar am Lipin, das er aus Rindermilz hatte herstellen können. Geleitet von der Intensität der Molisch-Reaktion gelang es ihm, daraus Galaktolipin zu gewinnen, und zwar in der Weise, dass er die gesamten Lipine in warmem Pyridin löste und diese Lösung dann abkühlen liess: dann setzten sich die Phosphatide der Hauptsache nach ab, während der grösste Teil der zuckerhaltigen Lipine in Lösung blieb. Nach Reinigung wurde das erhaltene Produkt als Kerasin identifiziert. Die reduzierende Komponente wurde auch in diesem Falle als Galaktose erkannt dadurch, dass dem Produkte der sauren Hydrolyse Essigsäure und Methylphenylhydrazin zugesetzt wurde: liess man dieses Gemisch einige Stunden bei Zimmertemperatur stehen, so entstand eine typische Krystallmasse von Galaktosemethylphenylhydrazon, das nach Umkrystallisieren aus wasserhaltigem Alkohol rein weiss war und bei 186° unter Zersetzung schmolz, während in der Literatur Werte von 182—191° angegeben werden.

Von der physiologischen Bedeutung der Lipine wissen wir noch ganz wenig mit Sicherheit: das meiste ist noch Hypothese. Doch nimmt die Wahrscheinlichkeit zu, dass sie eine Rolle beim Fettstoffwechsel spielen. Denn fast immer enthalten sie eine ungesättigte Fettsäure, und es ist bekannt, dass die Leber imstande ist, ungesättigte Fettsäuren in gesättigte umzuwandeln (364, S. 175). Ob gerade den kohlenhydrathaltigen Lipinen dabei noch eine besondere Rolle zufällt, muss die Zukunft lehren.

Die Mamma würde aus Phospholipinen den Phosphor abspalten und die Fettsäuren als Milchfett sezernieren (364, S. 177). In ähnlicher Weise könnte dann auch die Sekretion des Milchzuckers zustande kommen.

Unsere Kenntnis betreffs pathologischer Variationen ist womöglich noch geringer. Lieb (350, 351) konnte feststellen, dass die vergrösserte Milz bei Splenomegalie (Gaucher) einen Kerasingehalt von nicht weniger als 10% des Trockengewichts aufweisen kann, und zwar ausschliesslich dieses Lipin, ohne eine Spur von Phrenosin. Er erwähnt auch noch einige weitere ähnliche Befunde aus der Literatur. Schönheimer (483) fand Galaktolipine in einem Hypernephrom.

Auch von experimentellen Änderungen des Galaktolipingehalts ist

bisher wenig mit Sicherheit bekannt. Winterstein und Hirschberg (541) glaubten am isolierten Froshirn mit einer merkwürdig scharfen Methode feststellen zu können, dass Insulin in verhältnismässig geringen Gaben immer den Gehalt an Glykogen und Cerebrosidzucker ansteigen lässt, verglichen mit den Kontrollen; grössere Dosen hingegen bewirkten eine Abnahme beider.

Fragen wir uns jetzt zum Schluss, welche Befunde auf dem weiten Gebiete der Lipine übrigens für uns noch von Wichtigkeit sein könnten, so möge auf einige wenige zerstreute Ergebnisse aufmerksam gemacht werden:

Erstens enthalten sowohl Lecithin als Kephalin ungesättigte Fettsäuren, die sehr leicht sich oxydieren und deshalb zu Reduktion Anlass geben könnten (364, S. 7), wenigstens in soweit sie löslich sind und dem ente Weissenden Reagens entgehen.

Die Frage der „gebundenen Fette“ erwähnten wir schon (S. 124). Extrahiert man getrocknete Organe mit Äther, dann löst sich darin nur ein kleiner Teil der gesamten vorhandenen Lipine; zieht man dann den Rückstand mit Alkohol aus, so lösen sich darin leicht alle übrigen lipoiden Substanzen. Zur Erklärung dieses auffälligen Verhaltens nimmt man eine Bindung an Eiweiss an, die erst gelöst werden muss, bevor die Substanz ätherlöslich wird. Demgegenüber soll bei stark fettig degenerierten Organen die Mehrzahl der Lipine sofort ätherlöslich sein (364, S. 67); man vergleiche dies mit den früher (S. 161) zitierten Befunden betreffs des Verhaltens der „Fette“ und „Jecorine“ unter analogen Umständen.

Ein neues Lipin noch unbekannter Zusammensetzung glaubten Maclean c. s. aus alkoholischen Gewebsextrakten isoliert zu haben (364, S. 82). Sie beschrieben es unter dem Namen: Carnithin. Die Substanz entfärbte Fehlingsche Lösung beim Kochen, aber es entstand dabei kein Niederschlag von Kupferoxydul. Es zeigte sich eine Komponente anwesend, die die Reaktionen des Kreatinins lieferte. Wie schon erwähnt, hat man schon mehrmals darauf aufmerksam gemacht, dass Kreatinin, Ammonsalze usw. eine ähnliche Störung bei der Reduktionsbestimmung hervorrufen können (vgl. S. 9, 109); inwieweit das Kreatinin hier ein essentieller Bestandteil des neuen „Lipins“ ausmacht, wird, vorausgesetzt dass dessen Existenz bestätigt wird, die Zukunft lehren müssen.

### **Anhang: Plasmalogen.**

Anschliessend an obenstehende Besprechung der bei saurer Hydrolyse reduzierende Produkte liefernden Lipine möge hier noch eine verwandte Gruppe von Substanzen Erwähnung finden, die bisher nur von einer einzigen Gruppe von Forschern, von Feulgen und seinen Mitarbeitern, zum Gegenstand ihrer Arbeiten gemacht wurde, auch wenn dabei kaum auf etwaiges Reduktionsvermögen als solches geachtet wurde.

Es handelt sich hier um die als Plasmal bzw. in Form ihrer komplexen

Vorstufen als Plasmalogen bezeichneten Substanzen, denen man merkwürdigerweise zuerst durch eine histologische Farbreaktion mit einem bestimmten Reagens auf die Spur gekommen ist. Dieses zur Charakterisierung der betreffenden Substanzen unentbehrliche Reagens setzt sich folgendermassen zusammen:

In einem Erlenmeyerkolben übergiesst man 0,5 g Fuchsin mit etwa 70 ccm kochenden Wassers, schüttelt, bis es sich gelöst hat, filtriert in einen Masskolben von 100 ccm, wäscht das Filter mit wenig heissem Wasser nach, setzt 10 ccm n-HCl hinzu, kühlt unter der Wasserleitung bis zu Zimmertemperatur, setzt genau 0,500 g Natriumbisulfid (wasserfrei, zur Analyse) zu, füllt bis zur Marke auf und lässt vor dem Gebrauch 2 Tage im Dunkeln stehen. Der Masskolben dient gleichzeitig zum Aufbewahren; die Stöpsel sollen gut schliessen und nie länger als nötig abgenommen werden.

Daneben braucht man auch  $\text{SO}_2$ -haltiges Wasser, das man sich folgendermassen herstellt:

Genau 0,500 g Natriumbisulfid werden wie oben in einem Masskolben von 100 ccm in etwa 80 ccm Aq. dest. gelöst; dann setzt man 10 ccm n-HCl zu, füllt bis zur Marke auf und handelt weiter wie oben.

Beide Flaschen sollen in genau derselben Weise hergestellt werden, und auch das Aufbewahren muss vollkommen gleich stattfinden; ist von einer von beiden mehr verbraucht worden als von der anderen, so giesse man auch von dieser soviel vom Inhalt weg, dass die Volumina wiederum annähernd gleich werden (189).

Lässt man nun dieses Reagens auf frische Gewebsschnitte einwirken, so färben sich nur die etwa anwesenden elastischen Fasern violett, das übrige Gewebe aber gar nicht oder erst nach vielen Stunden. Hydrolysiert man aber das Gewebe zuvor ganz kurz mit Säure (5' in n-HCl bei  $60^\circ$ ), so beobachtet man jetzt eine sehr starke Färbung auf Zusatz des Reagens, die im besonderen die Zellkerne (sog. Nuclealfärbung), aber auch deutlich das Plasma (Plasmalfärbung) betrifft. Dieselbe Auswirkung wie die 5 Minuten dauernde Hydrolyse mit Säure hat beim Plasmal merkwürdigerweise Zusatz von — auch sehr verdünnten — Sublimatlösungen momentan: auch jetzt ist im Plasma alles färbbar geworden. Bei der Nuclealfärbung ist dies aber nicht der Fall und ist, zum Unterschied gegen die Plasmalfärbung, die genannte saure Hydrolyse unentbehrlich (191).

Dieses sehr auffällige Verhalten gegen Sublimat ist eine der meist charakteristischen Eigenschaften des Plasmals bzw. seiner Vorstufe des Plasmalogen. Die Reaktion fällt nur positiv aus bei Anwesenheit von Substanzen, gehörig zur Gruppe der Thymonucleinsäure; bei den pentosenhaltigen Nucleinsäuren bleibt sie negativ, ebenso bei den Zuckern. Als Fehlerquellen sind bisher bekannt: erstens die Anwesenheit von zuviel Wasser, wodurch die Fuchsin-schwefligsäure dissoziiert, und eine mehr rote Farbe entsteht; deshalb muss man zum Spülen usw. immer das  $\text{H}_2\text{SO}_3$ -haltige Wasser benutzen. Salze von schwachen Säuren, die gleichfalls die Dissoziation bewirken könnten, entfernt man aus mikroskopischen Präparaten mittels n/10-HCl. Die Fuchsin-schwefligsäure adsorbiert stark an pflanzlichen Membranen und gibt dann bisweilen eine mehr rötliche Pseudofärbung: auch darauf muss man gefasst sein (191).

An der Färbung müssen aldehydartige Substanzen beteiligt sein. Die einzigen übrigen im Körper vorkommenden Stoffe, die sich mit Fuchsin-schwefligsäure färben, sind Thymonucleinsäure (nach schwacher Hydrolyse mit Säure) und Acetaldehyd. Letzteres konnte aber ausgeschlossen werden, weil die in vivo vorhandenen Mengen äusserst gering sind, und es ausserdem eine viel mehr rötliche Farbe entwickelt (511).

Schon in der Kälte verbindet sich das Plasmal mit Phenylhydrazin; dabei wird die Färbbarkeit aufgehoben. Lässt man aber die Fuchsin-schwefligsäure stundenlang auf das isolierte Hydrazon einwirken, so wirkt das Reagens hydrolysierend, und es tritt doch noch eine Spätfärbung auf. Demgegenüber ist Sublimat nicht imstande die Aldehyd-Phenylhydrazinverbindung zu sprengen (191).

Auch ein Thiosemicarbazon des Plasmals liess sich herstellen und wurde sogar krystallinisch erhalten; wurde seine alkoholische Lösung mit alkoholischer Silbernitratlösung gefällt, so fiel das Silbersalz des Plasmalthiosemicarbazons aus, dessen Silbergehalt auf ein Molekulargewicht des Plasmals von etwa 165 hingewiesen haben soll (191). Bei späteren Untersuchungen (189) stellte sich aber heraus, dass es wenigstens zwei verschiedene Thiosemicarbazone gab, die sich, ebensowie ihre Silbersalze, unterschieden durch verschiedene Löslichkeit in Alkohol und Äther. Das eine Thiosemicarbazon bildete schöne Krystalle, die bei 106—107° schmolzen, aus Alkohol umkrystallisiert werden konnten und ein Molekulargewicht von etwa 343 aufweisen sollten; die Löslichkeit in Alkohol war aber, ebenso wie die in Äther, doch nur gering; sein Silbersalz war in Äther ganz unlöslich. Die zugrundeliegende Substanz wurde a-Plasmal genannt. Sie sei wahrscheinlich ein Oxoderivat des Oktadekans, und zwar vermutlich Oktadekanal (Stearinaldehyd); jetzt findet man wieder ein Molekulargewicht von etwa 270 angegeben (189)! Vor kurzem soll man daneben auch Palmitinaldehyd aufgefunden haben (274). Weiter wurde noch eine ölige Substanz isoliert, die gleichfalls eine positive Plasmalreaktion aufwies, im Gegensatz zur vorigen aber ein in Alkohol und Äther leicht lösliches, auch ein lösliches Silbersalz ergebendes Thiosemicarbazon lieferte. Dies soll wahrscheinlich wiederum ein Gemisch mehrerer Substanzen gewesen sein. Mit a-Plasmalthiosemicarbazon als Standard liess sich sogar eine kolorimetrische quantitative Bestimmungsmethode ausarbeiten (189) [s. unten].

Man hat sich auch bemüht, geführt von der Intensität der Plasmalreaktion, die in Frage stehende Substanz als solche zu isolieren, und dies ist gewissermassen tatsächlich gelungen. Sowohl das Plasmal als seine Vorstufe, das Plasmalogen, sind löslich in Alkohol; das Plasmalogen ist ausserdem löslich in Äther, Chloroform, Benzol und dessen Homologen, Petroläther usw., unlöslich in Wasser; es verhält sich also genau wie die Lipide und ist von diesen vorläufig wohl nicht trennbar; zweifellos ist es auch in alkoholischen Blut- und Gewebsauszügen, von denen hier schon so oft die Rede war, zugegen.

Da in vivo nur Plasmalogen vorkommt, hat man nur mit seinen Eigenschaften zu rechnen (191).

Sich stützend auf die oben beschriebenen Eigenschaften kann man sich rohes Plasmalogen in folgender Weise herstellen: Man extrahiert Fleisch mit Alkohol, destilliert vom Auszug den Alkohol ab, reinigt den Rückstand durch Fällung mit Aceton und Cadmiumchlorid aus der alkoholischen Lösung; so verarbeitet gerät das Plasmalogen immer in die Phosphatidfraktion (190), und zwar im besondern in die Lecithinfraktion (275).

Eine ältere Methode war folgende (191): 10 kg zerhacktes Pferdefleisch, von dessen Plasmalogenreichtum man sich zuvor durch Anstellung der Plasmalreaktion an Gefrierschnitten überzeugt hat, bringt man in 30 l kochenden Wassers, das 1% NaCl enthält. Unter stetem Rühren hält man es während 15' auf etwa 80°, löscht die Flamme, lässt einige Minuten absetzen und giesst ab. Nochmals übergiesst man den Rückstand mit überschüssigem Wasser, rührt, giesst ab, und wiederholt dies nach 36 Stunden. Dann presst man den Rückstand gründlich aus, und übergiesst ihn mit soviel Alkohol, dass dieser alles bedeckt, und man alles bequem rühren kann. Man lässt es 3 Tage lang verschlossen stehen unter wiederholtem Rühren und giesst wiederum ab. Diese alkoholische Extraktion wird in derselben Weise noch dreimal wiederholt. Der zweite Auszug weist den höchsten Plasmalogengehalt auf; der erste enthält noch zuviel Wasser.

[Zur Orientierung kann man zwei Streifen Filtrierpapier in die Extrakte tauchen und trocknen lassen. Den einen hält man dann während 3 Minuten in 1%iger Sublimatlösung, den anderen in reines Wasser. Man spült den Sublimatstreifen einige Minuten mit Wasser und bringt dann beide gleichzeitig in das Fuchsinreagens. War Plasmalogen zugegen, so färbt sich der mit Sublimat behandelte Streifen fast momentan, während der andere erst sehr viel später eine Spur von Färbung erkennen lässt. Dieser Versuch liefert auch den Beweis, dass man das Plasmal in Form seiner Vorstufe, als Plasmalogen, mit Alkohol extrahieren kann, so dass eine Bindung des Aldehyds z. B. an Eiweiss also nicht in Frage kommt (191)].

Die vereinigten alkoholischen Extrakte werden dann in vacuo zum dicken Brei eingeeengt, mit mehreren Volumina Wasser versetzt und zwecks Entfernung der letzten Alkoholreste nochmals zum Brei eingeeengt. Diese Emulsion, die neben Lipoiden das Plasmalogen in festem Zustande enthält, kann dann zur Herstellung des freien Plasmals verwendet werden. Dazu kann man es erstens mit Sublimat, z. B. mit etwa  $\frac{1}{10}$  Vol. 6%iger Sublimatlösung, versetzen; zweitens aber kann man bei Zimmertemperatur verdünnte Mineralsäure während längerer Zeit einwirken lassen. Hat man einmal nach einer dieser beiden Methoden (vorzugsweise mit Sublimat) das Plasmal in Freiheit gesetzt, so kann man es mit Wasserdampf überdestillieren; dabei setzt es sich alsbald in Form eines weissen Belages an den Wänden des Vorlagekolbens ab. Löst man diesen Belag in Alkohol oder Äther und tränkt mit der Lösung Filtrierpapier, so färbt sich dies mit dem Fuchsinreagens schnell intensiv violett. Der Belag schmilzt beim Erwärmen, erstarrt wiederum beim Abkühlen. Versetzt man seine alkoholische Lösung mit Wasser, so scheidet sich die Substanz an der Oberfläche als ein Rahm ab, der zu einem Öl zerfliesst, aber nicht erstarrt. Setzt man der Emulsion eine wässrige Lösung von Thiosemicarbazid zu und schüttelt, so geht das Öl fast momentan in festen Zustand über, und auch die Emulsion flockt aus; alles sammelt sich, weil spezifisch leichter als die Flüssigkeit, an der Oberfläche. Durch Destillation mit Dampf oder Hydrolyse mit Säure lässt sich aus dem Plasmalthiosemicarbazon wieder leicht Plasmal zurückgewinnen.

Trotz dieser scheinbar sehr einfachen Herstellungsweise schien die Bereitung von grösseren Mengen Plasmal doch nicht leicht, erstens weil wahrscheinlich 10 kg Fleisch nur wenige Gramm Plasmal enthalten, zweitens weil diese Menge nur einen geringen Bruchteil der etwa 1 l betragenden Stammemulsion ausmacht, und das Plasmal relativ nur wenig flüchtig ist. Deshalb muss man mit grossen Mengen Destillat arbeiten, unter Ausschluss des Luftsauerstoffs, weil sonst die Aldehydgruppe sich zur entsprechenden Säure oxydiert. Die Destillation dauert daher sogar mehrere Tage (191).

Ebenso wie durch Sublimat kann man auch durch saure Hydrolyse (Endkonzentration  $\frac{1}{3}$  n-HCl, 3 Stunden bei Zimmertemperatur) das Plasmal in die mit Wasserdampf destillierbare Form bringen, die sich mit dem Fuchsinreagens färbt (191), weil die Aldehydgruppen freigemacht

sind, die deshalb danach auch reduzierendes Vermögen besitzen muss. Das ist der Grund, weshalb wir in dieser Arbeit diese Substanz(en) aufgenommen haben. Dass wir sie an dieser Stelle besprochen haben, findet seinen Grund darin, dass sie sowohl in Herstellungsweise als in physikalischen und chemischen Eigenschaften (Stearinaldehyd wird sich bei unachtsamer Verarbeitung leicht zu Stearinsäure oxydieren, die beim „Jecorin“ wiederholt identifiziert wurde!), so viele Ähnlichkeiten mit dem „Jecorin“ darbieten. Es ist deshalb kaum zu bezweifeln, dass das Plasmal im verwickelten Jecorinproblem eine Rolle spielt.

1. Für den qualitativen Nachweis in Körperflüssigkeiten haben Stepp c. s. (511) folgendes Verfahren angegeben:

In ein Reagensröhrchen bringt man 2 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit, z. B. Serum, und 2 ccm 0,3 n-HCl, in ein zweites Röhrchen gleichfalls 2 ccm Serum und 2 ccm einer 0,3 n-HCl-Lösung, die 1% Sublimat enthält. Dann versetzt man beide Röhrchen mit 2 ccm Fuchsinchwefelsäure. Ist Plasmalogen zugegen, so färbt sich der Inhalt des sublimathaltigen Röhrchens innerhalb weniger Minuten blauviolett, während das andere vorläufig ganz farblos bleibt. Erst nach einer Stunde fängt auch letzteres an sich zu färben, obwohl es mehrere Stunden dauert, ehe die Farbintensität maximal geworden ist.

Die so angestellte Reaktion war positiv in Blutserum (in Nabelschnurblut viel schwächer als in Placentarblut); stark in Erythrocytenstromata; ausserordentlich stark in dickem gelben Eiter aus einem Gallenblasenempyem, und zwar besonders in dessen Leukocyten; Fruchtwasser deutlich positiv; Cerebrospinalflüssigkeit negativ; Kammerwasser negativ; Harn bisher immer negativ gefunden, auch nach Einengen in vacuo. Milch deutlich positiv, sowohl beim Menschen als bei Rindern. Colostrum sehr stark positiv. Speichel deutlich positiv, herrührend von den darin vorhandenen Zellen (511).

2. Quantitative Bestimmung. Im lebenden Körper komme das Plasmal nie frei, sondern immer als Plasmalogen gebunden vor (189, 190). Deshalb muss es immer zuerst in Freiheit gesetzt werden, bevor man es in Form des Plasmalthiosemicarbazons — die vorläufig einzig brauchbare Methode — quantitativ bestimmen kann.

Die Werte in Plasma und in Serum sollen identisch sein, ebenso wie die in arteriellem und venösem Blut. Wird Blut kühl aufbewahrt, so ändere sich in den ersten Tagen dessen Plasmalogengehalt nicht.

Ausgedrückt in Milligramm Plasmalthiosemicarbazon wurden die folgenden mittleren Werte pro l. Serum festgestellt:

	Anzahl Tiere	Im Mittel mg Thiosemicarbazon pro Liter
Ochsen (♂) (kastriert) . . . . .	8	56,4
Kühe (♀) . . . . .	8	60,1
Rinder (♂ u. ♀ zusammen) . . . . .	23	57,4
Pferde (♂) (kastriert) . . . . .	5	25,3
Pferde (♀) . . . . .	5	30,9
Mensch . . . . .	5	27—29
Hund . . . . .	4	14,2
Hahn . . . . .	2	12,8

	Anzahl Tiere	Im Mittel mg Thiosemicarbazon pro Liter
Kaninchen (♂) (nicht kastriert) . . . . .	1	10,4
Kaninchen (♀) . . . . .	1	11,9
Kaninchen (♂ u. ♀ zusammen) . . . . .	6	10,7
Ziege (♀) . . . . .	4	10,3
Hammel (♂) (kastriert) . . . . .	3	5,9
Schaf (♀) . . . . .	5	6,9
Schwein . . . . .	9	6,0

Im allgemeinen schien also bei den Weibchen der Gehalt etwas höher als bei den (meistens kastrierten) Männchen.

Nahrung mit pflanzlicher Kost schien (beim Hammel) den Plasmalogengehalt des Serums nicht zu beeinflussen; wurde aber (einem Hunde) während längerer Zeit keine tierische Nahrung verabreicht, so sank der Plasmalogengehalt seines Serums bis auf etwa ein Drittel seines Anfangswertes und blieb dabei; dasselbe wurde beim Menschen festgestellt. Erwachsene Rinder wiesen Werte von etwa 57 mg auf, Kälber hingegen nur 22,3 mg (Mittel von 12 Tieren), und wenn man sie sofort nach der Geburt untersuchte, sogar Werte, die nur ein Zwanzigstel des Gehaltes beim Muttertier betrug, dessen Werte normal waren. Nach der Geburt zeigte sich eine schnelle Zunahme: 1—2 Monate später war schon die untere Grenze der Norm für erwachsene Tiere erreicht. Bei neugeborenen Kindern schienen ähnliche Verhältnisse vorzuliegen (275, 276).

Da die Milch, und besonders das Colostrum, Plasmalogen enthält, bilden diese offenbar eine der Quellen, obwohl weiter vielleicht Synthese im kindlichen Organismus oder Mobilisation von irgendwo aufgespeicherten Vorräten in Betracht kommen (276). Auch erwachsene Tiere (sowohl Hunde wie Hammel) zeigten nach Verabreichung plasmalogenreicher Nahrung eine Steigerung des Serum-Plasmalogenwertes bis auf das Doppelte, nicht aber nach plasmalogenarmem Futter. Tierische Nahrung enthält reichlich Plasmalogen, pflanzliche wenig oder gar nichts (190). Dennoch weisen im allgemeinen Fleischfresser im Blute einen niedrigeren Plasmalogengehalt auf als Pflanzenfresser: Rinder zeigen die höchsten Werte. Aber in derselben Gruppe der Wiederkäuer haben doch Hammel einen sehr niedrigen Wert. Jedenfalls scheint für jede Tierespezies ein bestimmter mittlerer Wert charakteristisch zu sein (275).

Im Magen wird bei Hyperacidität innerhalb 3 Stunden alles Plasmal aus dem Plasmalogen abgespalten, bei normalem Salzsäuregehalt nur ein Teil; bringt man aber freies Plasmal in den Magen, so folgt darauf keine Steigerung des Plasmalogengehalts des Blutes; spritzt man es intravenös ein, so verschwindet es sofort spurlos: offenbar wird es gleich von den Geweben aufgenommen (190).

Die Leber scheint am Plasmalstoffwechsel unter normalen Umständen kaum beteiligt, denn Imhäuser (275) konnte keinerlei Unterschied zwischen dem Plasmalogengehalt des Serums der Vena portae und dem der Vv. hepaticae finden, weder beim hungernden Tier noch auf dem Höhepunkt der Resorption nach einer sehr plasmalogenreichen Fleischmahlzeit. Früher war schon gefunden worden, dass Lebern von Fröschen und Ratten nur sehr wenig Plasmalogen enthielten; jetzt zeigte sich aber, dass andere Tierspezies es zweifellos wohl besitzen, und zwar in den Leberzellen selbst. Imhäuser gibt folgende, mit der histologischen Methode erhobenen Befunde betreffs der Stärke der Plasmalreaktion: es fällt auf, dass die höchsten Plasmalogenwerte vorkommen in phosphatidreichen Organen.

	Kaninchen	Hund	Mensch
Muskel . . . . .	++	++	+++
Herzmuskel . . . . .			+++
Milzpulpa . . . . .		++	} ++
Milztrabekel . . . . .		+	
Gl. thyreoidea . . . . .		++	++
Hypophyse . . . . .	+++	++	++++ (Vorderlappen)
Leber . . . . .	+	+++	++++
Niere (besonders Tub. contort.) . . . . .	+++	+++	+++
N. ischiadicus . . . . .	++++	++++	
Kleinhirn, weisse Substanz . . . . .	+++++	+++++	+++++
„ graue „ . . . . .	++	++	++
Grosshirn, weisse „ . . . . .	+++++	+++++	
„ graue „ . . . . .	++	++	
Nebenniere, Rinde . . . . .	+++++	+++++	+++++
„ Mark . . . . .	++	++	++
Plexus sacralis-Stamm . . . . .			+++++
Rückenmark, weisse Substanz . . . . .	++++		
„ graue „ . . . . .	+++		
Pankreas . . . . .			+++

Als Merkwürdigkeit erwähnen wir noch, dass schon 1895 Lemaire (322a) Neubauer und Vogel zitiert, die gefunden hatten, dass, wenn sie zwecks Entfernung des reduzierenden Kreatinins normalen Harn mit Sublimat behandelten, das reduzierende Vermögen stärker wurde. Haben nun diese Autoren schon einen ersten Fingerzeig für die am meisten charakteristische Eigenschaft des Plasmalogens gefunden, oder gründen sie ihre Meinung einfach auf die sich absetzende Menge Kupferoxydul, die zuvor vielleicht teilweise vom Kreatinin in Lösung gehalten wurde?

### XIII. Kondensation von Pentosen zu verschiedenen Verbindungen: Nucleoproteide, Nucleotide usw.

War in den vorangehenden Seiten fast immer die Rede von Hexosen und ihren Verbindungen, so wollen wir uns jetzt kurz mit dem beschäftigen, was vom Vorkommen und von der biologischen Bedeutung der Pentosen in gebundener Form bekannt ist, denn auch in diesem Falle ist die Folge der hydrolytischen Abspaltung eine Erhöhung des reduzierenden Vermögens.

Besonders in Form der Nucleoproteide bilden sie einen äusserst wichtigen Bestandteil aller Zellkerne. Deshalb wird man sie auch in der grössten Menge antreffen in denjenigen Organen und Geweben, die sich durch einen grossen Kernreichtum auszeichnen, wie dies z. B. beim Pankreas der Fall ist (186, 187, 188, 249, 290, 291, 514, 542). Eine quantitative Bestimmung des Pentosengehalts ist aber sehr schwierig, und deshalb muss man sich begnügen mit den wenigen Werten, die z. B. Grund (242) schätzungsweise erhalten hat. Dieser Forscher folgerte aus der Furfurolausbeute (die aber ebensogut von Glykuronsäure und ihren Verbindungen, ja sogar von Hexosen herrühren könnte!), dass der Gehalt betrage: in

Pankreas vom Rinde . . . . .	4,47%	des Feuchtgewichtes
Kalbsleber . . . . .	1,00	„ „ „
Kalbsthymus . . . . .	0,99	„ „ „
Submaxillaris (Rind) . . . . .	0,96	„ „ „
Thyreoid (Rind) . . . . .	0,90	„ „ „
Niere (Rind) . . . . .	0,84	„ „ „
Milz (Rind) . . . . .	0,81	„ „ „
Gehirn (Rind) . . . . .	0,29	„ „ „
Muskel (Rind) . . . . .	0,21	„ „ „

Mit etwas abgeänderter Technik hat auch Fraisse (209) ähnliche Bestimmungen ausgeführt. Auch er fand den höchsten Gehalt im Pankreas; dann folgten in absteigender Reihe: Milz, Leber, Testikel, Mamma, Gehirn, Muskel und schliesslich Blut. Letzteres soll nach ihm einen sehr geringen Gehalt an solchen Substanzen (Pentosen und Glykuronsäure) aufweisen. Die höchsten Werte hat er in den Organen von Schweinen angetroffen, die niedrigsten in denen eines Hundes, der lange Zeit ausschliesslich mit Fleisch gefüttert worden war. Alte Tiere wiesen für gewöhnlich höhere Werte auf als junge.

[Beiläufig sei hier aufmerksam gemacht auf eine neuere Methode zur quantitativen Bestimmung, die nach ihrem Autor sehr schnell, und zwar ohne Destillation, zum Ziele führen soll; dies ist die Methode von McCance (114).]

Übrigens sind die im Tierkörper vorkommenden Pentosen noch keineswegs mit absoluter Sicherheit chemisch identifiziert worden [Dakin (152, S. 119; Armstrong (5, S. 98)]. Noch vor kurzem hat Winter (537) sich bemüht, in dieser schwierigen Frage etwas Klarheit zu schaffen. In einer sehr breit angelegten Untersuchung konnte er feststellen, dass eines der

Pentosenderivate im tierischen Organismus eine Riboseverbindung, und zwar wahrscheinlich ein Alkylribosid, ist. Daneben aber komme seines Erachtens eine zweite ähnliche Substanz vor, die sich sehr wenig zugänglich zeigte, und die er daher vorläufig nur in Form ihres methylierten Derivates noch unbekannter Struktur isolieren konnte. Jedoch zeigte sie sich als eine Substanz von ausserordentlich interessanter Natur. Sie wurde hergestellt aus Lebern und Muskeln von Kaninchen und Ziegen. Wurde die Lösung dieser Substanz, sogar in sehr konzentrierter Form, sich selbst überlassen, so wurde die Molisch-Reaktion immer schwächer, um schliesslich ganz zu verschwinden; kurzes Aufkochen mit ganz schwacher Säure genügte aber schon, um sie wieder positiv zu machen. Doch nahm durch saure Hydrolyse das reduzierende Vermögen nicht zu, obwohl am methylierten Produkte gezeigt werden konnte, dass doch wohl ein reduzierender Zucker im Spiel ist. Dieses Produkt war destillierbar (vgl. unter anderem Plasmal!); das Destillat war löslich in Alkohol und Äther und wies eine positive Molisch-Reaktion auf; nach saurer Hydrolyse enthielt es eine reduzierende Substanz. Das unbekannte Pentosenderivat lieferte bei Destillation Furfurol; dass Glykuronsäure im Spiele war, konnte aber auf Grund der negativen Naphthoresorcinprobe ausgeschlossen werden. Die Mengen, um die es sich hier handelt, sind aber minimal: frisches Gewebe soll pro Kilogramm etwa 2,5 mg Ribosid und etwa 50 mg der unbekanntenen Substanz enthalten. Insulin schien diese Werte nicht zu beeinflussen. Die Ribose wurde in dieser Untersuchung identifiziert in Form ihres Osazons.

Was das physiologische Verhalten der Pentosen im Körper betrifft, so ist darüber noch fast gar nichts bekannt. Doch können sie zweifellos von grosser Bedeutung sein, angesichts der Tatsache dass sie wahrscheinlich in allen Zellen vorkommen. Einige wenige Hinweise besitzt man schon. So hat man bereits früher beobachtet, dass der Körper auch aus Pentosen Glykogen aufzubauen imstande ist. Bei Diabetikern sah man nach Pentoseverarbeitung Glykosurie (343, S. 121).

Weiter spielen, wie schon gesagt, die Pentosephosphatester beim Aufbau der Nucleinsäuren, und deshalb bei dem der Zellkerne, eine wenigstens ebenso wichtige Rolle wie die Hexosephosphatester beim Muskelstoffwechsel (5, S. 84). Nach den neuesten Erfahrungen scheint es sogar, dass sie neben dem Lactacidogen auch in der Muskelfaser selbst eine bedeutende Funktion haben. Das würde wenigstens folgen aus der Mitteilung von Embden und Zimmermann (175), die in frischem Muskelpresssaft konstant neben Hexosemonophosphat ein Mononucleotid, Adenylsäure, fanden. Diese wurde in schönen Krystallen erhalten; sie ist leicht aus heissem Wasser umkrystallisierbar und schmilzt bei 195°. Die wässrige Lösung weist eine stark positive Orcinreaktion auf und ist optisch linksdrehend; nach Hydrolyse mit Schwefelsäure war sie reduzierend und rechtsdrehend geworden (174, Fussnote S. 129). Die Ausbeute an dieser Substanz war ziemlich gross. Schon bisher liess sich feststellen,

dass die Adenylsäure wirksamen Anteil nimmt am Chemismus der Muskelaktion; worin aber dieser Anteil bestehe, sagen die Autoren nicht.

Jackson (278) fand Nucleotide auch im Blute.

Ausser in normalen Geweben scheinen solche Substanzen auch unter pathologischen Umständen, und zwar besonders bei Tumoren, eine Rolle zu spielen. So fanden wenigstens Enselme c. s. (176), dass Carcinomgewebe auffällig viel Nucleinphosphor enthält; nach Röntgenbestrahlung (aber nur wenn diese Erfolg hat) verschwinde dieser Überschuss, während Lipidphosphor und Fettgehalt im Tumor steigen.

Weiter gibt es klinische Beobachtungen, die darauf hinzuweisen scheinen, dass Pentosen beim intermediären Eiweissstoffwechsel eine gewisse Rolle spielen (235, S. 160 u. 165). Schliesslich weiss man auch aus chemischen Erfahrungen, dass bei sehr langsamer Oxydation in vitro sich aus Hexosen Pentosen bilden können (5, S. 59; 152, S. 119). Vielleicht geschieht Ähnliches auch im lebenden Körper, und diese Frage erscheint um so wichtiger, wenn wir uns die zu wenig bekannte Tatsache vor Augen halten, dass nach neueren Erfahrungen die tierischen Nucleinsäuren zum Teil Pentosen zum Teil aber auch eine noch unbekanntere Hexose als Kohlenhydratkomponente enthalten [Cole (121, S. 109)].

#### XIV. Glykuronsäure und ihre Verbindungen.

Die Glykuronsäure ist als reduzierende Substanz für uns zweifellos von Bedeutung. Zusammen mit Hexosamin, Schwefelsäure und Essigsäure in äquimolekularen Mengen bildet sie einen regelmässigen Bestandteil der Kohlenhydratgruppe der Mucoproteine in Blut und allerhand Organen: deshalb muss sie in allerlei Hydrolysaten zugegen sein [Levene (343, S. 76)]. Man wird sie aber nur dann erwarten können, wenn die Hydrolyse mit Vorsicht geschah, denn bei etwas rohem Arbeiten wird sie bald zerstört; man kann aber auch zu vorsichtig arbeiten, und erlebt dann gleichfalls Täuschungen, da dann die Glykuronsäure nicht genügend aus ihren Verbindungen gelöst wird. Hierin liegt vielleicht die Erklärung, warum man bisweilen, besonders bei Hydrolyse mit Schwefelsäure, ungleichmässige Ergebnisse und besonders Verluste bekommt: die Glykuronsäure wäre dann eine der Schuldigen.

Die Methoden, nach denen Levene die Glykuronsäure aus solchen Verbindungen isoliert und identifiziert hat, beschreibt er (l. c., S. 111) ausführlich; darauf sei also verwiesen. Als hydrolysierendes Agens verwendete er Natriumamalgam.

Oxydiert man Glykuronsäure mit einem geeigneten Reagens, z. B. mit Brom, so entsteht Zuckersäure, die man als saures Kalisalz identifizieren kann (343, S. 76). Da dieselbe Verbindung auch bei Oxydation von Glucose entsteht, muss man dies beim Versuch, mit Hilfe dieser Methode unbekanntere Hydrolyseprodukte zu erkennen, wohl im Auge behalten.

Ausser in den Mucoproteinen kommt die Glykuronsäure in vivo noch in einer anderen wichtigen Form vor, und zwar in den sog. gepaarten Glykuronsäuren, gebunden an allerlei Gifte, mit denen der Körper in Berührung kam. So erwähnen z. B. Cammidge c. s. (112, S. 149) als solche unter anderem: Chloral, Bromal, Campher, Naphthol, Anilin, Benzol, Terpentin, Phenol (s. auch 403), Salicylate, Resorcin, Menthol, Toluol, Thymol, Antipyrin, Antifebrin, viele Alkohole und Ketone. Weiter paart Glykuronsäure sich mit einigen ungesättigten Kohlenwasserstoffen, vielen Aldehyden (403), Amylenhydrat (156), Äthylurethan (529). Im zuletzt genannten Falle wird die gebildete Verbindung (beim Kaninchen) als sog. Urochloralsäure mit dem Harn ausgeschieden. Mit welcher Geschwindigkeit aber diese Ausscheidung geschieht, darüber wissen wir nichts. Dies ist um so bedauerlicher, als die Menge, die man von dieser Substanz als Narkoticum in vielen Versuchen braucht, etwa 1 g pro Kilogramm Tier beträgt, so dass man die Bildung beträchtlicher Mengen der gepaarten Substanz erwarten könnte. Dies erscheint uns unter anderem einer der wichtigsten Bedenken gegen unsere eigenen, später zu besprechende Leberfensterversuche. Denn man weiss schon lange, dass sie der Hauptsache nach in der Leber gebildet werden; man hat ihre Ausscheidung auch mit der Galle zeigen können (82, 322).

Aus all diesen gepaarten Verbindungen ist durch richtige saure Hydrolyse die freie Säure wieder in Freiheit zu setzen, so dass man auch hier ein reduzierendes Hydrolyseprodukt bekommt.

Was das Vorkommen der Glykuronsäure im Blute betrifft, so wird man sie frei wohl nicht erwarten können. In gebundener Form aber kommt sie, wie wir schon sahen, sicher darin vor: schon 1901 hat Mayer (389) sie daraus in Form der Parabromphenylhydrazinverbindung isoliert. Ausserdem hat man sie später, wie schon erwähnt, als konstanten Bestandteil des gleichfalls konstant im Blute vorhandenen Serummucoïds erkannt, abgesehen von den gepaarten Glykuronsäuren, die man logischerweise ebenfalls als — wenigstens vorübergehend — im Blut anwesend wird betrachten müssen.

Wie der Glykuronsäurestoffwechsel mit dem übrigen Stoffwechsel zusammenhängt, ist erst in den letzten Jahren einigermaßen deutlich geworden.

Erstens fand Benech (24), dass bei Individuen, die ungenügend Nahrung erhalten, wenig oder gar keine Glykuronsäure mit dem Harn ausgeschieden wird. Verabreicht man ihnen dann, in mehreren Portionen über den Tag verteilt, 200—300 g Glucose, so erscheint sie wieder im Harn, nicht aber, wenn die Leber krank ist. Die normale Menge beträgt nach diesem Autor etwa 30 mg pro Liter Harn; 4 Tage nach der Zuckerverabreichung steige sie bis auf 40—60 mg pro Liter.

Stepp (510) hat versucht, mit Hilfe der Naphthoresorcinprobe von Tollens etwas tiefer in das Problem einzudringen: Enteiweisste Blutfiltrate wurden eingeengt bis auf  $\frac{1}{6}$ — $\frac{1}{10}$  des ursprünglichen Blutvolumens.

Sodann wurde von der Flüssigkeit 0,3—0,5 ccm genommen und mit einigen winzigen Körnchen Naphthoresorcin und einem gleichen Volumen rauchender oder 25%iger Salzsäure während etwa einer halben Minute gekocht. Danach wurde das Ganze unterm Wasserhahn gekühlt und vorsichtig, so dass keine Emulsion entstand, mit Äther ausgeschüttelt. Das Ergebnis war, dass alle Blutproben, ohne Ausnahme, eine deutlich positive Reaktion aufwiesen. Am stärksten war diese bei azotämischen Nephritikern, deutlich bei Gesunden, schwach hingegen bei Diabetikern. Diese Intensitätsunterschiede sind also dieselben wie andere Autoren sie für die Hy-S des Blutes festgestellt haben (s. S. 196 usw.).

Stepp selbst gibt aber zu, dass die Reaktion nicht vollkommen typisch verlief, und zweitens, dass atypische Reaktionen, ausser von Glykuronsäure, auch geliefert werden von anderen Substanzen, die die Gruppen  $-\text{COH}.\text{COOH}$  oder  $-\text{CO}.\text{COOH}$  enthalten. Dennoch glaubt Stepp, das in seinen Fällen es sich immer um richtige Glykuronsäure handelte.

Auch einige Jahre später noch ist er überzeugt, dass Glykuronsäure einen regelmässig vorkommenden Blutbestandteil bilde (507), und zwar sowohl beim Menschen als bei Tieren. Nach ihm sei dies in konzentrierten eiweissfreien Blutfiltraten leicht zu zeigen mit Hilfe nicht nur der Naphthoresorcin-, sondern auch der Orcin- und der Phloroglucinprobe. Nochmals bestätigte er seine Befunde an Normalen, Nephritikern und Diabetikern. (Nebenbei gesagt, könnte hierin, ebenso wie bei Lépinés Versuchen bemerkt wurde, eine Erklärung liegen für die von Winter und Smith gefundene Tatsache, dass bei Diabetikern eine weniger starke Diskongruenz bestehe zwischen optischer Rotation und reduzierendes Vermögen von eiweissfreien Blutfiltraten als bei Gesunden, eine der Fundamentaltatsachen, auf denen die Lehre der  $\gamma$ -Glucose beruht!).

Es hat sich aber gezeigt, dass der Glykuronsäurestoffwechsel von Insulin nicht beeinflusst wird: erstens hat es keinen erkennbaren Einfluss auf die Bildung der gepaarten Verbindungen, und zweitens produziert ein pankreasloser Hund falls nötig ebensoviel Glykuronsäure wie ein normales Tier. Das Bemerkenswerte dabei ist, dass die gleichzeitig ausgeschiedene Menge Glucose abnimmt: ein Fingerzeig, dass, wenigstens beim pankreasdiabetischen Tiere, sowohl die Glykuronsäure als die Glucose aus derselben Grundsubstanz stammen, und dass, wenn Glykuronsäurebildung nötig, dies auf Kosten des Kohlenhydratvorrats geschieht (450).

Nach Frank und Bretschneider (211) ist die reduzierende Substanz, die durch saure Hydrolyse aus Erythrocyten entsteht, keine Glykuronsäure oder Pentose, denn sie ist vergärbar. Ausserdem ist nach ihnen die Naphthoresorcinreaktion in Erythrocyten nicht deutlich, wohl aber in Plasma von Mensch und Kaninchen. Dennoch trägt nach ihnen die gesamte Menge Glykuronsäure in Normalblut höchstens 0,10 pro mille. Auch sie

glaubten damals schon feststellen zu können, dass sie bei einem Diabetiker fehlte.

Schliesslich sei vollständigkeithalber, wegen des darin ausgearbeiteten Prinzips, noch die neue Methode zur quantitativen Bestimmung der Glykuronsäure von Roger (465) erwähnt; vielleicht kann sie gerade auf diesem Gebiet noch nützliche Verwendung finden.

In all den oben referierten Untersuchungen wird gesprochen von „Glykuronsäure“. Dies geschieht aber meistens, wie schon früher bei der Besprechung der Befunde Lépines in enteweisstem Blut erwähnt wurde, rein spekulativ oder auf Grund einer einzigen positiven Reaktion. Vollständige Identifikationen sucht man aber vergebens. Denn dazu müsste man nach van der Haar (246) sich überzeugen, dass die Substanz

1. eine positive Naphthoresorcinreaktion nach Tollens zeigt, auch beim Ausschütteln mit Benzol nach Neuberg und Saneyoshi;

2. eine positive Zuckersäurereaktion aufweist: Bildung von zuckersaurem Kalium und -Silber;

3. die Pentosenspektralreaktionen zeigt;

4. Fehlingsche Lösung reduziert, und zwar fast momentan auch in der Kälte (bei d-Fructose fängt dies erst nach  $\frac{1}{2}$ —1 Stunde an);

5. polarisiertes Licht nach rechts dreht;

6. ein krystallinisches Lacton liefert (F.  $175^{\circ}$  nach Umkrystallisieren aus Äthylacetat,  $\alpha_D = \pm 19,1$ — $19,25^{\circ}$ ).

7. parabromphenylosazonglykuronsaures Barium liefert.

Erst wenn all diese Versuche positives Resultat ergeben haben, darf man nach ihm die Anwesenheit von Glykuronsäure als erwiesen betrachten. Einen so vollständigen Beweis hat aber bisher noch kein einziger Autor erbracht!

## XV. Hexosamine und ihre Verbindungen.

Bei der sauren Hydrolyse von allerhand Organen und auch von Blut bekommt man ausser der gewöhnlichen stickstofffreien auch stickstoffhaltige Kohlenhydrate, die ebenso wie ihre N-freien Verwandten reduzierend einwirken können auf alkalische Lösungen eines Kupfersalzes. Die wichtigsten und bestbekanntesten dieser Verbindungen sind Chitosamin (Glucosamin) und Chondrosamin, die beide reduzieren.

Im Blute wäre nach Mme. Randoïn (453, S. 189) die Menge des Chitosamins zu vernachlässigen; wie wir aber soeben bei Besprechung der Glykuronsäure gesehen haben, ist es, zusammen mit dieser Substanz, ein konstanter und wichtiger Bestandteil der Mucoproteine. Es ist deshalb wohl sicher, dass bei saurer Hydrolyse des Blutes auch stickstoffhaltige Zucker freiwerden; nur ist es die Frage, inwieweit sie sich der fallenden Wirkung des enteweisenden

Reagens entziehen können. Phosphorwolframat z. B. lässt Chitosamin unbehindert passieren [Needham (402)].

Bierry c. s. (42) vermuteten anfänglich, dass der bei saurer Hydrolyse freiwerdende Zucker eine Menge Chitosamin enthalte, die mit höchstens 10% des freien Blutzuckerwertes übereinstimme; in einer späteren Mitteilung heisst es, dass der Aminozucker gar nicht, oder höchstens nur in Spuren darin vorkommen soll (453, S. 189). Vollkommen richtig ist dies, wie gesagt, keinesfalls, denn, da bei der Spaltung der Organmucoproteide immer, und aus denen des Blutes wahrscheinlich ebenso, äquivalente Mengen von Hexosamin und Glykuronsäure in Freiheit gesetzt werden (343, S. 74), kann man beide im Hydrolysat erwarten. Es ist aber die Isolierung ebenso wie die Identifizierung der einen Substanz sowohl wie der anderen keineswegs leicht, so dass dies erst in letzter Zeit vollständig gelungen ist (343, S. 76 usw.). Hydrolysiert man mit zu stark verdünnter Säure oder während zu kurzer Zeit, so bleiben Glykuronsäure und Hexosamin zusammen verbunden in Form des Disaccharids Chondrosin. Hydrolysiert man aber kräftiger, während längerer Zeit oder mit stärkerer Säure, so entsteht die Möglichkeit, dass Glykuronsäure zerstört wird. Nur wenn man in ganz bestimmter Weise, mit Natriumamalgam, hydrolysiert, soll es gelingen, alle Komponenten intakt zu behalten. Den negativen Befund von Bierry und Mme. Randoïn muss man also nicht allzuschwer wiegen lassen; erstens hydrolysierten sie mit Mineralsäuren, zweitens enteissten sie mit Mercurinitrat, das vielleicht die Hexosamine zusammen mit den übrigen stickstoffhaltigen Substanzen gefällt hat, und drittens besteht die Möglichkeit, dass ihre zur quantitativen Bestimmung verwendete Methode nicht empfindlich genug war.

Eine sehr ausführliche Übersicht der jetzigen Meinungen auf diesem Gebiet findet man in der schon genannten schönen Monographie Levenes (343). Daraus werden wir hier und da einige der wichtigsten Tatsachen herausgreifen müssen, um den Zusammenhang mit dem uns selbst beschäftigenden Problem deutlicher hervortreten zu lassen.

Vorweggenommen sei, dass der übliche Ausdruck: Glucosamin, mit dem dann Chitosamin gemeint wird, mehr als bewiesen voraussetzt als wirklich feststeht. Denn es ist noch keineswegs sicher, ob Chitosamin Glucosamin oder Mannosamin ist (343, S. 13); wohl lässt sich Glucose daraus herstellen. Chondrosamin hingegen ist sehr wahrscheinlich ein Galaktosederivat. Dieses Nebeneinandervorkommen von analogen Verbindungen von Glucose oder Mannose einerseits und von Galaktose andererseits haben wir in den vorangehenden Seiten schon mehrmals erwähnt; deshalb sei die Aufmerksamkeit des Lesers nochmals darauf hingelenkt. Übrigens kommen von jeder der genannten Substanzen  $\alpha$ - und  $\beta$ -Isomere vor, mit verschiedenem optischen Rotationsvermögen und den üblichen Mutarotationserscheinungen.

Was den physiologischen Wert dieser Aminozucker betrifft, so steht

fest, dass sie in allerhand Organen und Körperflüssigkeiten vorkommen. Fest steht auch, dass sie, Versuchstieren per os einverleibt, vom Organismus festgehalten werden (343, S. 62). Was dann aber mit ihnen geschieht, ist bisher ein Rätsel. In Gestalt von Glykogen hat man sie wenigstens nicht wiederfinden können. Inwieweit es logisch war zu erwarten, dass sie in Glykogen übergehen sollten, möge dahingestellt bleiben; möglicherweise war dabei wieder die übliche, von uns schon erwähnte Überschätzung der physiologischen Bedeutung des Glykogens mit im Spiel, um so mehr wenn, wie es scheint, auch polymere Aminosucker bestehen (s. Kapitel: Glykogen).

Wie kommt das Hexosamin im tierischen Körper vor? Hauptsächlich als Komponente der schon genannten Kohlenhydratgruppe der Mucoproteine, in denen neben Hexosamin Schwefelsäure, Essigsäure und Glykuronsäure in äquimolekularen Mengen anwesend sind (343, S. 74). In den Mucoproteinen gibt es also Substanzen, die in zweierlei Hinsicht für uns Bedeutung haben, da nach hydrolytischer Spaltung sowohl die Glykuronsäure als das Hexosamin Reduktionsvermögen besitzen. Dabei sind in der Natur die Chitosamin- (d. h. Glucosamin- oder Mannosamin-)derivate weiter verbreitet, aber schwerer der Analyse zugänglich als die Chondrosamin- (d. h. Galaktosamin- oder Talosamin-)derivate. Letztere findet man in Knorpel, Sehnen, Aorta und Sklera, während die Anwesenheit von chitosaminhaltigen Mucoproteiden mit Sicherheit gezeigt wurde in Organen wie Magenschleimhaut, Nabelschnur, Cornea und in Flüssigkeiten (Serummucoïd, Ovomucoïd, Humor vitreus). Schliesslich hat man noch eine grosse Menge von solchen oder ähnlichen Substanzen in allerlei parenchymatösen Organen angetroffen, ohne dass ihre Entdecker sich die Mühe nahmen oder imstande waren, genau zu bestimmen, zu welcher von den beiden Klassen die in Frage stehende Substanz gehörte. So erwähnt Levene (l. c., S. 87 usw.) solche Befunde in: Haut, Knochen, pathologischem Knochengewebe, Speicheldrüsen (Submaxillaris), Darm- und Harnblasenschleimhaut, Milz, Mamma, Niere, Pankreas, Leber, Lymphdrüsen, Thymus, und auch in Ovarialcysten, Sarkom- und Fibromgewebe, in Amyloid, in Leukocyten, und im Harnmucin. Auch hier gibt es also manche Berührungspunkte mit dem uns selbst beschäftigenden Problem. Wir werden Levene nicht folgen in seiner detaillierten Kritik der einschlägigen Literatur und erwähnen nur, dass den von manchen für sehr wichtig geachteten letzten Arbeiten Schmiedebergs (481) von ihm weniger Wert beigemessen wird.

[Beiläufig möge darauf hingewiesen werden, dass beim Versuch, Schwefelsäureester der Kohlenhydrate herzustellen, als erstem Schritt auf dem Wege zur Synthese der Kohlenhydratgruppe der Mucoproteine, mit Erfolg Diaceton-glucose angewandt wurde (343, S. 120), eine Substanz, der wir a. a. O. (237, letztes Kapitel) in anderem Zusammenhang glaubten eine mögliche physiologische Rolle nicht absprechen zu dürfen, auch wenn seither ausgeführte Versuche ad hoc uns in dieser Meinung nicht gestärkt haben (s. auch S. 125)].

Levene (l. c., S. 143) ist überzeugt, dass Substanzen des beschriebenen Typus nahezu ausschliesslich in Betracht kommen für Bindung an Eiweiss, und dass bisher kein einziger überzeugender Beweis geliefert sei für die Isolierung eines nichtstickstoffhaltigen Zuckers aus Ovalbumin oder irgendeinem anderen sog. Glucoprotein. Hier erinnern wir aber an die später unternommenen Untersuchungen von Fraenkel und Jellinek (s. S. 101), von denen Chitosaminomannose in Hühnereieralbumin identifiziert wurde.

Für die Aufzählung der physikalischen und chemischen Eigenschaften der Hexosamine sei nochmals auf Levenes Monographie verwiesen. Daneben möge noch die Aufmerksamkeit gelenkt werden auf die damals von Steudel (512, 513) angegebene Methode, nach der man die Aminozucker nicht mit viel Mühe und Verlust zu isolieren braucht, sondern sie aus dem bei der sauren Hydrolyse entstandenen Gemisch sofort ausfällen kann mit Phenylisocyanat, das sich z. B. mit „Glucosamin“ in alkalischer Lösung verbindet zu einem in Wasser sehr schwer löslichen Produkt, das man aus verdünnter Essigsäure umkrystallisieren kann als schweres Krystallpulver, das scharf bei  $210^{\circ}$  schmilzt.

Zweitens wollen wir darauf hinweisen, dass Vellinger (526) festgestellt hat, dass die optische Rotation von „Glucosamin“-Lösungen sehr empfindlich ist gegen geringe Änderungen des  $p_{\text{H}}$ ; auch dies wird man im Auge behalten müssen, wenn, wie in letzter Zeit üblich, die optischen Eigenschaften von Hydrolysaten untersucht und minutiös analysiert werden.

## XVI. Glutathion.

Hinsichtlich dieser erst seit wenigen Jahren bekannten, stark reduzierenden und ein reduzierendes Hydrolysenprodukt liefernden Substanz haben wir uns gleichfalls gefragt, ob sie vielleicht Teil habe an den Werten, die wir für gewöhnlich mit dem Namen von „freiem“ bzw. „gebundenem“ Blut- und Gewebs„zucker“ bezeichnen. Wir glauben dies auf Grund der in der Literatur festgelegten, aus erster Hand stammenden Daten verneinen zu können.

Erstens wird die Substanz gefällt von Alkohol (515), von Quecksilbersalzen und von Phosphorwolframsäure (264); mit anderen Worten man hat sie in den in üblicher Weise erhaltenen eiweissfreien Blutfiltraten nicht zu erwarten. Deshalb kann sie auch nicht beteiligt sein am Entstehen der bekannten Differenzen zwischen dem aus der optischen Drehung berechneten und dem auf dem reduzierenden Vermögen begründeten „Glucose“-gehalt ( $\gamma$ -Glucose, Winter und Smith), wie Holden (264), einer der früheren Mitarbeiter der genannten Autoren, auf Grund des stark linksdrehenden Vermögens glaubte voraussetzen zu können. Nur wenn man z. B. mit Trichloressigsäure enteiwisst, das das Glutathion in Freiheit lässt (523), kann Holdens Meinung zutreffen. Und was die Bestimmung des „Gesamtzuckers“ in Hydrolysaten betrifft: bei saurer Hydrolyse zerfällt die Substanz in Cystein und Glutaminsäure (267, 515). Diese beiden Spaltprodukte werden vom enteiwissenden Agens je nach dessen Natur mehr oder weniger vollständig entfernt werden. Da aber in Hydrolysaten nur die Salze der schweren Metalle für diesen Zweck in Betracht kommen, ist die Möglichkeit, dass bei richtiger Technik solche Substanzen doch ins Filtrat gelangen und mitbestimmt werden, sehr gering. Deshalb sehen wir von weiterer Besprechung dieser Substanzen ab.

## XVII. Physiologie des „gebundenen Zuckers“ des Blutes.

Wiederum werden wir diesen in den folgenden Seiten der Kürze halber als Hy-S bezeichnen, damit zugleich alle Verwechslungen mit unbewiesenen Voraussetzungen, wie sie z. B. im Namen: „Eiweisszucker“ enthalten liegen, von vornherein ausgeschlossen seien.

Der Hauptsache nach können wir hier die von Lépine und seinen Mitarbeitern gefundenen, und auch die von Bierry c. s. in einer Reihe von Mitteilungen veröffentlichten, von Mme. Randoïn in ihrer Dissertation zusammengefassten (453) Tatsachen wiedergeben, die zweifellos als experimentell erhaltene Daten grossen Wert haben, wenn auch die Methodik oft wechselte und bisweilen Anlass gab zu berechtigter Kritik.

Wie wir schon bei der Besprechung der Versuche Pavys gesehen haben, lässt HCl als spaltendes Agens eine gewisse Menge reduzierender Substanz intakt, die von  $H_2SO_4$  zerstört wird; da Bierry c. s. hauptsächlich diese Säure benutzt haben, müssen ihre Zahlen Minimalwerte sein. Dass wir uns mit ihrer Deutung des Ergebnisses als „Eiweisszucker“ nicht einverstanden erklären können, verringert nicht im geringsten die Brauchbarkeit ihrer Zahlen.

Die weiteren Daten stammen hauptsächlich von italienischen (Condorelli c. s.) und englischen (Cambridge c. s.) Autoren.

### A. Bei verschiedenen Tierarten und Individuen.

Unter identischen Umständen sollten beim selben Individuum die Mengen sowohl des freien Blutzuckers als der Hy-S nahezu konstant sein. Das Verhältnis dieser beiden nannte Bierry (39) den „glykämischen Index“; auch dieser soll deshalb nach ihm für jedes Individuum nahezu konstant sein. Das bestreiten aber Lépine und Boulud (334); nach ihren Erfahrungen sei die Hy-S bei einem bestimmten Individuum nur so lange nahezu konstant, als die äusseren Umstände konstant bleiben; dann aber findet man auch mit Zwischenräumen von Monaten nahezu identische Werte [Randoïn (453 S. 249)].

Ebenso konstant sollte auch für jede Tierart der Hy-S-Gehalt des Blutes sein, und zwar soll dieser in einem der Körpertemperatur entgegengesetzten Sinne variieren (42, 453 S. 280 usw.), wie die folgende Tabelle (S. 188) zeigt.

Es zeigt sich aus der Tabelle, dass die von anderen Autoren festgestellten Werte nicht ganz genau der soeben genannten von Randoïn aufgestellten Regel folgen; im grossen ganzen scheint diese doch zuzutreffen. Die Tatsache, dass andere Autoren für die mittlere Körpertemperatur etwas abweichende Werte angeben, erscheint in diesem Falle gleichfalls ohne Bedeutung.

Sehr merkwürdig ist in diesem Zusammenhang das Verhalten der Tierarten, die einen Winterschlaf durchmachen. So sinkt z. B. während des Winterschlafes beim Murmeltier nach Randoïn (453, S. 245) der freie Blutzucker beträchtlich ab; die Hy-S hingegen bleibt unverändert. Sobald

Tierart	Zahl der Individuen	Blutart	Körpertemperatur °C	Freier Blutzucker pro mille (A)	Hy-S pro mille (B)	Glykäm. Index $\frac{B}{A}$	Zitat
Huhn <sup>1</sup> . . . . .	27	art.	42,0	2,17	1,15	0,53	Randoin (453, S. 28)
Taube . . . . .	5	„	41,9	2,10	0,96	0,46	Dieselbe
Kaninchen . . . . .	7	„	39,5	1,19	1,38	1,16	Dieselbe
„ normal . . . . .	9	ven.	39,5	1,05	1,22	1,16	Grevenstuk
„ 24 Stunden hungernd . . . . .	4	„	39,5	1,03	0,37	0,36	Derselbe
Hund . . . . .	38	art.	39,3	1,15	0,95	0,83	Randoin (l. c.)
„ normal . . . . .	7	gemischt	39,3	0,91	0,56	0,62	Grevenstuk
„ 16 Stunden hungernd . . . . .	44	?	39,3	0,85	0,60	0,71	Lépine (342)
Pferd . . . . .	16	art.	37,7	0,87	1,35	1,55	Randoin (l. c.)
Rind . . . . .	2	„	37,7	0,73	1,36	1,86	Dieselbe
Mensch . . . . .	14	} Plasma Finger- spitze	37,0	0,84	0,42	0,50	Bisceglie (73)
„ . . . . .	?		37,0	0,82	0,45	0,54	Brugi (89)
„ . . . . .	18		37,0	0,76	0,42	0,55	Condorelli (136)
„ . . . . .	12		37,0	0,83	0,43	0,52	Caltabiano (104)
Schildkröte . . . . .	2	art.	—	0,83	1,16	1,40	Randoin (l. c. 183)
Kröte, männlich . . . . .	106	—	—	0,14	1,49	10,65	Dieselbe
„ weiblich <sup>2</sup> . . . . .	76	—	—	0,10	1,02	10,20	Dieselbe
Fische: Aal . . . . .	8	—	—	—	2,71	—	Dieselbe
Myoxocephalus <sup>3</sup> . . . . .	5	—	—	0,24	0,51	2,12	MacLeod (151, 366 S. 191)
Hai . . . . .	12	—	—	0,32	—	—	Randoin (l. c.)
„ . . . . .	11	—	—	—	2,44	(7,63)	Dieselbe
Polyp . . . . .	8	—	—	0,50	2,64	5,29	Dieselbe
Schnecke . . . . .	?	—	—	0,0—0,10	0,17—0,70	>1,70	Morel c. s. (397)

aber die Tiere erwachen, steigt der freie Zucker wieder steil an bis etwa zum Dreifachen seines vorigen Wertes; demgegenüber sinkt die Hy-S sehr stark. An einem solchen Tiere beobachtet man also sozusagen den Übergang von Warm- zu Kaltblüter und umgekehrt. Bisweilen aber scheint der Verlauf der beiden Blutbestandteile gerade der Entgegengesetzte zu sein. Aber auch in diesem Falle sogar zeigt sich nochmals deutlich die gegenseitige Abhängigkeit von freiem Blutzucker und Hy-S, eine Tatsache, auf die wir schon einige Male hingewiesen haben, und auf die wir in der späteren Besprechung unserer eigenen Versuchsergebnisse nochmals zurückkommen werden.

<sup>1</sup> Eine Gruppe von 5 Hühnern fiel auf durch die Tatsache, dass sie neben dem niedrigsten freien Zuckergehalt im Mittel den höchsten Hy-S-Gehalt aufwies.

<sup>2</sup> Beide Gruppen von Kröten waren im Frühjahr gefangen worden, in der Laichzeit: bei den männlichen Tieren, die nach der Tabelle den höchsten Gehalt des Blutes an Hy-S aufwiesen, war die Leber am ärmsten an Glykogen; bei den Weibchen war das Verhältnis gerade entgegengesetzt [Randoin (453, S. 264)].

<sup>3</sup> Im Sommer waren die Werte für den freien Blutzucker viel höher, während die der Hy-S um ein geringes niedriger schienen (151).

## B. Beim selben Individuum in verschiedenen Gefäßgebieten.

Die Besprechung der diesbezüglichen Daten werden wir in drei Unterabteilungen gliedern müssen, und zwar:

1. Das Verhalten der Hy-S in den peripheren Gefäßen (Einfluss von Muskeln usw.).

2. Das Verhalten der Hy-S in den Gefäßen der parenchymatösen Organen, mit Ausnahme der Lebergefäße.

3. Das Verhalten der Hy-S in den Gefäßen, die zur Leber in Beziehung stehen.

### 1. Die Hy-S in den peripheren Gefäßen.

Nach den anfänglichen Angaben Bierrys (36, 42, 58) enthält das arterielle periphere Blut (des Oberschenkels eines Hundes) mehr Hy-S als das venöse, auch wenn man den Wassergehalt mit in Betracht zieht. Später aber gibt seine Mitarbeiterin, Mme. Randoin (453, S. 180/181 u. 227) gerade das Gegenteil an, dies belegend mit einigen Daten, aus denen sich ergeben soll, dass venöses Blut oder Plasma etwas mehr Hy-S enthalten soll als arterielles; auch in diesem Falle wurde durch Bestimmung des Trockenrückstandes dem Wassergehalt Rechnung getragen. Es lagen zwar die Unterschiede in der Nähe der Versuchsfehler, aber da die Abweichung immer nach derselben Seite lag, wird man diesen Ergebnissen wahrscheinlich doch nicht allen Wert absprechen können.

Wie dem auch sei, Lépine und Boulud haben festgestellt (341), dass der Gesamtzucker, die Summe beider also, im arteriellen Blute immer höher ist als im venösen. Das stimmt also zu dem allgemein angenommenen Zuckerverbrauch seitens des Muskels. Nach ihnen sei aber ausserdem die Erniedrigung des Gesamtzuckers viel beträchtlicher als sich aus der Bestimmung des freien Zuckers allein ergeben würde; es werde demnach vom Muskel auch Hy-S aufgenommen, übereinstimmend mit Bierrys anfänglicher Angabe. Lépine c. s. verneinen bestimmt, dass je das venöse Blut mehr Zucker enthalte als das arterielle, dass je auch das arterielle mehr enthalte als das des rechten Ventrikels (332).

Kaum 2 Jahre später aber sind Lépine c. s. schon weniger positiv in ihren Äusserungen und sagen, sie haben keineswegs behaupten wollen, dass das genannte Verhalten immer und in allen Umständen bestehe. So glauben sie bei Chloroformnarkose bisweilen das entgegengesetzte Verhalten beobachtet zu haben, und auch bei Phlorhizinvergiftung steige der Hy-S-Gehalt im venösen Blute an, nicht nur, wie sie schon früher feststellen konnten, in der Nierenvene, sondern auch in der Vena jugularis (342). Dass das venöse Blut im Mittel einen um ein Achtel erniedrigten Gesamtzuckergehalt aufweise im Vergleich zum arteriellen, soll daherrühren, dass ein Teil davon

der echten Glykolyse anheimfällt; der Rest soll zum Aufbau von Hy-S (sog. falsche Glykolyse, siehe das diesbezügliche Kapitel!) verwendet werden. Offenbar stellen sie sich vor, dass dieser dann in den Geweben abgelagert oder verbraucht werde, sonst bestände ein Widerspruch mit ihren zuerst referierten Meinungen.

Brugi (89) konnte in seinen Tierversuchen, wie er sagt, die Befunde Lépines vollkommen bestätigen; Protokolle oder Zahlen teilt er aber nicht mit. Auch beim Menschen fand er im Blut aus der Fingerbeere, das er als arteriell betrachtet, immer einen höheren Gehalt an freiem Zucker und Hy-S als im venösen; der freie Zucker zeige immer die stärkste Erniedrigung. Staute er die Vene, so waren die genannten Unterschiede noch deutlicher.

Condorelli (136) verneint jede Änderung: nach ihm sieht man beim Vergleich von Plasma aus der Fingerbeere mit dem aus der Vena cephalica, dass letzteres immer etwas weniger freien Zucker, aber den gleichen Gehalt an Hy-S besitzt.

Lépine (326) hat einmal noch versucht eine Differenzierung auszuführen zwischen dem physiologischen Verhalten des durch Invertin abspaltbaren *Sucre virtuel* und dem des nur mittels HF abspaltbaren *Sucre fortement combiné*. Er glaubte feststellen zu können, dass bei der Passage von der Arteria cruralis durch das Capillargebiet zur Vena femoralis der *Sucre virtuel* sich nur um ein geringes verminderte, während aber der *Sucre fortement combiné* eine beträchtliche Abnahme aufwies (wiederum ein Hinweis, dass dieser, falls nötig, sich intensiv am Stoffwechsel beteiligen kann). Nach Lépine erfolge die Glykolyse beim Passieren der Capillaren *in vivo* etwa 60mal schneller als *in vitro*!

Die Spaltung der Hy-S komme unter Einfluss eines besonderen, normal im Körper vorhandenen Fermentes zustande [Lépine (325)]; dadurch könne ein fast momentanes Ansteigen des freien Blutzuckers bewirkt werden. (Hat er hierbei das Glykogen der Organe nicht vergessen?) Derselbe Prozess soll auch in Blut *in vitro* stattfinden (s. Kapitel *Sucre virtuel*).

Nach Lépine (325) sei die Tatsache, dass man aus venösem Blut durch Hydrolyse mit Säuren weniger reduzierende Substanz in Freiheit setzen kann als aus arteriellem, besonders deutlich, wenn man beim Hunde während der Digestion von Zucker arterielles und Portal-Blut miteinander vergleicht.

Die Hy-S muss man teils als exogen (Steigerung nach Glucoseingestion), teils als endogen (Steigerung nach Inanition und wiederholten Blutverlusten) betrachten.

Oft beobachtet man einen hohen freien Zuckergehalt neben einem niedrigen Hy-S-Wert oder umgekehrt [Lépine und Boulud (342)]. Das vergleiche man mit unserem eigenen später zu erwähnenden analogen Befund betreffs Hy-S und Glykogen der Leber!

## 2. Die Hy-S in den Gefäßen der parenchymatösen Organe.

Beim Passieren der Lunge nehme der freie Zuckergehalt des Blutes zu, der Hy-S-Gehalt hingegen sinke ab, so dass die Summe beider etwa unverändert bleibe [Lépine und Boulud (331)]. Roger, Rathery und Binet (466) bestätigten, dass, obwohl in der Lunge eine Einengung stattfindet, der Hy-S-Gehalt nach Durchströmen der Lunge niedriger ist als zuvor; dies haben sie feststellen können an sieben mit Chloralose narkotisierten Hunden, bei denen der Gehalt des Blutes aus dem rechten Herzen mit dem des linken verglichen wurde. Macleod (366, S. 193) aber sagt beiläufig, es sei ihm nicht gelungen, Lépinés Befund zu bestätigen.

Beim Passieren der Niere beobachtet man Ähnliches; dabei sahen wenigstens Lépine und Boulud (323, 331) gleichfalls eine Zunahme des freien Zuckers auf Kosten des gebundenen, und zwar sowohl bei normalen als bei phlorhizinvergifteten Hunden. Offenbar besitzt also auch die Niere das Vermögen, reduzierende Substanz aus ihren Bindungen in Freiheit zu setzen: eine Eigenschaft, auf die wir einige Seiten früher (Kapitel: Lactacidogen) schon hingewiesen haben und sogleich, bei der Besprechung des Diabetes, nochmals zurückkommen werden.

## 3. Die Hy-S in den Gefäßen der Leber.

Bierry und Rathery (60) fanden im Plasma der Venae hepaticae bei 1—2 Tage hungernden Hunden viel mehr freien Zucker und weniger Hy-S als in dem der Vena portae.

Conti (140a) hat wenigstens 12 Stunden hungernden Kaninchen ohne Narkose den Bauch geöffnet, das Ligamentum falciforme durchtrennt, die Leber aufgeklappt und dann die zu- und abführenden Venen punktiert. Von fünf Fällen wiesen vier im Plasma der V. portae einen höheren Hy-S-Gehalt als in den Vv. hepaticae auf, beim fünften war der Gehalt in beiden Gefäßgebieten gleich. Es muss aber bemerkt werden, dass diese Tiere, offenbar unter Einwirkung des Traumas, einen freien Blutzucker zeigten, der viel höher war als vor der Operation; bemerkenswert scheint, dass die im Ohrenvenenblut vor der Operation bestimmten Hy-S-Werte genau liegen zwischen denen der an- und abführenden Lebergefäße nach der Operation:

Vena portae nach Operation Hy-S pro mille	Ohrenvene vor Operation Hy-S pro mille	Venae hepaticae nach Operation Hy-S pro mille
0,92	0,83	0,58
0,90	0,65	0,59
0,78	0,71	0,44

Man könnte darin einen Hinweis erblicken, dass die Leber unter diesen Umständen die Hy-S abfängt und wenigstens zum Teil den „Zucker“ daraus abspaltet, um so eher als bei diesen Versuchen das Lebervenenblut immer auch viel mehr freien Blutzucker enthielt als das der Portalvene; freilich darf man dabei auch das Leberglykogen keineswegs ausser Betracht lassen.

### C. Beim gleichen Individuum unter verschiedenen physiologischen Umständen.

Hier müssen wir zu allererst unsere Aufmerksamkeit der alimentären Glykämie widmen. Es genügt hier die Reproduktion einer von Condorelli (136) publizierten Kurve, die keine nähere Besprechung erfordert;

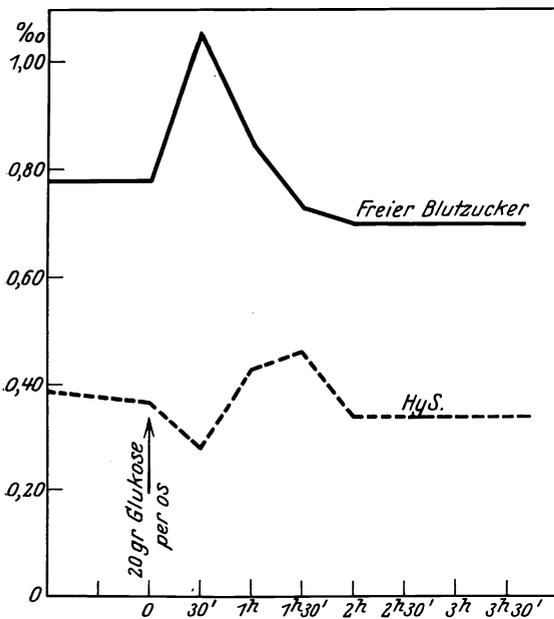


Abb. 1.

man sieht, dass nach Verabreichung von 20 g Glucose an ein gesundes Individuum die Hy-S-Kurve des Plasma zuerst absinkt, bisweilen sogar bis auf Null (125), dann wiederum ansteigt und schliesslich wieder normal wird (Abb. 1).

Auch in einigen anderen seiner Veröffentlichungen findet man Protokolle, aus denen sich derselbe Verlauf konstruieren lässt (129, 135, 138). Dabei ist auffällig, dass der Verlauf nahezu derselbe ist, gleichgültig ob man die 20 g Glucose per os gibt oder intravenös bzw. subcutan einspritzt.

Brugi (89) gab Dosen von 50 g Glucose; die Kurve zeigte dann dieselbe Gesamtform, aber es scheint, dass in diesem Falle die einzelnen Phasen einander schneller folgen.

Es würde uns zu weit führen, wenn wir alle die Versuche, die Cammidge und Howard (112) über diesen Gegenstand ausgeführt haben, hier lückenlos wiedergäben; wir erwähnen nur folgendes: Es stellte sich heraus, dass auf die „Difference value“, d. h. (wie schon oben S. 43 besprochen) die nicht mit Phosphorwolframsäure fällbare Hy-S-Fraktion, weder der Ernährungszustand, noch die Natur der Nahrung beim normalen Menschen bedeutenden Einfluss hatte, höchstens wurde auch in diesem Falle in den ersten Stunden nach der Mahlzeit eine Senkung beobachtet. Gaben sie nun aber

einem Individuum, bei dem die postprandiale Steigerung des freien Blutzuckers sich ihrem Maximum näherte, aufs neue eine reichliche Dosis Glucose per os, so sahen sie die Difference value des mit Phosphorwolframsäure enteiweissten Blutes, die zuerst unverändert geblieben oder abgesunken war, im Anschluss daran steil ansteigen; sie glauben dies dadurch erklären zu können, dass von der zweiten Zuckergabe ein Teil nach dem grossen Kreislauf entschlüpfe in einer halbwegs polymerisierten Form, die zwischen Dextrin und Glykogen steht. Offenbar ist daran die Leber schuld, denn nach Franke und Wagner (213) erscheine, wenn man den Organismus mit grossen Glucosemengen unter Vermeidung des normalen Resorptionswegs überschwemmt, d. h. also durch intravenöse, intraperitoneale oder rectale Injektion, innerhalb ganz kurzer Zeit hydrolysierbares Kohlenhydrat im Blute in stets steigenden Mengen, während der vergärbare freie reduzierende Blutzucker absinkt.

Bordet (84) spritzte einem Hunde von 14 kg Körpergewicht 70 ccm 30% Glucose haltende hypertonische Kochsalzlösung ein und beobachtete nach dieser grossen Dosis schon nach 5 Minuten eine beträchtliche Steigerung des Hy-S, d. h. von 0,74 auf 1,62 pro mille. Hier scheinen also die verschiedenen Stadien noch schneller durchlaufen zu werden.

Nach Lépine und Boulud (331, 338) werde nach intravenöser Einspritzung von 2 g Glucose pro Kilogramm Hund oft, aber nicht konstant, eine Steigerung des Hy-S-Gehaltes beobachtet. Offenbar haben sie die Bestimmungen also bisweilen in der einen, ein andermal in der anderen Phase des oben beschriebenen Verlaufs ausgeführt.

Weiter konnte Lépine (323, S. 298 usw.) feststellen, dass nach intravenöser Glucoseinjektion die Menge des „Sucre virtuel“, die sich beim Stehen bei 58° während einer Stunde abspaltete, erheblich anstieg. Während der normale Gehalt seines Erachtens etwa 0,20 pro mille betrage, habe er nach Glucoseeinspritzung eine Steigerung bis auf 2,12 pro mille beobachtet. Dies gibt also einen Hinweis, in welcher Fraktion man eine etwaige Zunahme der Hy-S zu suchen hat. In diesem Zusammenhang ist auch sehr bemerkenswert der Befund Pavys (434, S. 23), dass bei Kaninchen von den intravenös eingespritzten Zuckerarten es gerade die Galaktose ist, die am schnellsten und zwar sofort nach der Injektion aus dem zirkulierenden Blute als freier Zucker verschwindet, schneller als Fructose, viel schneller als Glucose. Demgegenüber stellte es sich heraus, dass nach subcutaner Einspritzung von kleineren Dosen derselben Zuckerarten die Zunahme des reduzierenden Vermögens des alkoholischen Blutextraktes durch saure Hydrolyse, 2 Stunden nach der Injektion bestimmt, am grössten war nach Verabreichung von Maltose, am geringsten nach Fructose (l. c., S. 29). Die von Pavy festgestellten Tatsachen nach parenteraler Verabreichung von allerhand anderen Kohlenhydraten können wir hier, als für uns von untergeordneter Bedeutung, beiseite lassen. Nur erwähnen wir, mit Hinsicht auf die von anderer Seite

behauptete Anwesenheit von Maltose im Blute, dass Pavy (436) nach Einspritzung von Maltose nur eine geringe Ausscheidung hiervon mit dem Harn beobachten konnte, während der Zucker auffallend lange im Blute zirkulieren blieb. Parenterale Injektion von Glykogen verursachte bei Kaninchen immer Albuminurie und Hämaturie; das Blut zeigte nach der Einspritzung nur eine sehr geringe Steigerung seines reduzierenden Vermögens durch saure Hydrolyse, der Harn aber enthielt grosse Mengen eines Kohlenhydrates mit auffallend niedrigem reduzierenden Vermögen, das durch Hydrolyse mit Säure ganz enorm anstieg; da vor der Hydrolyse aber die Substanz keine Jodreaktion mehr zeigte, kann sie kein unverändertes Glykogen gewesen sein.

Neuerdings hat Caltabiano (104) ähnliche Untersuchungen betreffs der niederen Zucker wiederholt mit Hilfe der modernen Mikromethodik von Condorelli, die es ermöglicht, die verschiedenen Phasen des Prozesses näher zu verfolgen. 24 Stunden hungernden Kaninchen wurden verschiedene Zuckerarten eingespritzt; geschah die Injektion subcutan, so wurden freier Blutzucker und Hy-S jede Viertelstunde bestimmt; war intravenös eingespritzt worden, so wurde die Bestimmung jede 10 Minuten vorgenommen. Dabei stellte sich heraus, dass nach parenteraler Verabreichung von Glucose ebenso wie von Fructose (3—5 ccm der 50%igen Lösung) freier Blutzucker und Hy-S des Plasma genau denselben Verlauf zeigten, wie von Condorelli anfangs nur für die Ingestion per os beschrieben, d. h. in der ersten halben Stunde Steigerung des freien Zuckers und Absinken der Hy-S, bis zu deren vollständigem Verschwinden; danach allmähliches Absinken des freien Zuckers zusammen mit einem gleichfalls allmählichen Wiederansteigen der Hy-S, die oft sogar nach 1½ Stunden sich noch in steigender Linie bewegt. Dies bestätigt also Condorellis und Brugis experimentelle Befunde bei parenteraler Zuckerzufuhr vollkommen. Saccharose, Maltose und Lactose wurden in derselben Weise und in gleicher Dosis subcutan verabreicht; eine besondere Methodik (Bestimmung des Hydrolysenwertes im mittels Uranyl-nitrat enteiweissten Blute neben der üblichen im Gesamtblut und der gewöhnlichen Bestimmung des freien Blutzuckers; Berechnung des Ergebnisses nach einer speziellen Formel, gegründet auf dem Verhältnis des reduzierenden Vermögens der Biosen zu dem der Glucose) erlaubte, die im Kreislauf vorhandene Biase abzutrennen von den daneben vorhandenen übrigen Komponenten der Hy-S.

Dann zeigte sich, dass nach Saccharoseeinspritzung die Hy-S ebenso wie nach Glucose zuerst absinkt, um nachher wieder anzusteigen; die Saccharose bleibt lange Zeit hindurch unverändert im Blute kreisen. Nach Maltose und Lactose beobachtet man gleichfalls anfängliches Absinken und nachfolgendes Ansteigen der Hy-S; in diesen Fällen aber verschwindet der eingebrachte Zucker schnell aus der Blutbahn, während der zuerst abgesunkene freie Zucker schnell zunimmt in so starkem Masse, dass dies nahezu voll-

kommen der verschwundenen Menge Biose entspricht. Offenbar kann der Körper die beiden zuletzt genannten Biosen schnell benutzen, und zwar am leichtesten noch die Maltose.

Auch gesunden Menschen hat Caltabiano (l. c.) Glucose subcutan oder intravenös eingespritzt; nach intravenöser Injektion waren die Erscheinungen dieselben, wie man sie nach peroraler Darreichung beobachtet hat, d. h. zuerst Absinken, dann Steigerung der Hy-S. Nach subcutaner Einspritzung aber änderten sich weder der freie Blutzucker noch die Hy-S nennenswert, obwohl der Zucker doch schnell resorbiert wurde.

Intravenöse Injektion der Triose Dioxyaceton scheint insoweit einen bemerkbaren Erfolg zu haben, dass, wenn man es im Insulinkrampf stadium befindlichen Kaninchen einspritzt, je nachdem der Dioxyacetongehalt des Blutes absinkt, sowohl der „freie“ als der „Gesamt“-Blutzucker ansteigen [Campbell c. s. (113)], so dass jedenfalls eine etwaige Erniedrigung der Hy-S hinter der Steigerung des freien Zuckers zurückbleibt, wenn nicht die Hy-S gleichbleibt oder gleichfalls zunimmt.

Aus dem obenstehenden geht deutlich hervor, dass das quantitative Verhalten der Hy-S enge zusammenhängt mit der Menge und der Art der Kohlenhydrate, die dem Körper zur Verfügung stehen. Und nicht die Kohlenhydrate allein; der ganze Ernährungszustand scheint von ausschlaggebender Bedeutung. Dies erhellt auch aus den weiter unten zu erwähnenden Tatsachen betreffs des Einflusses von Hungern usw. Einen weiteren Hinweis in derselben Richtung geben auch unsere eigenen später ausführlich zu besprechenden Versuche.

Es erscheint uns auch angebracht, an dieser Stelle die weiteren wichtigen Beobachtungen von Cammidge und Howard (112), die sich auf dieses Problem beziehen, näher zu besprechen. Zwar betreffen sie alle nur eine Fraktion der Hy-S, und zwar die, welche die „Difference value“, d. h. die Differenz des Reduktionsvermögens vor und nach saurer Hydrolyse des mit Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure enteiweissten Blutes verursacht, aber ihre Befunde erscheinen uns von grossem Wert, um so mehr als sie grösstenteils den oben für die Gesamt-Hy-S angegebenen parallel verlaufen.

An allererster Stelle sahen sie, dass bei Kaninchen nach einer Mahlzeit von trockenem Hafer die „Difference value“ anstieg bis auf das Fünffache ihres ursprünglichen Wertes. Wurde statt Hafer dextriniertes Hafermehl gegeben, so wurde sogar ein Ansteigen bis auf das Hundertfache beobachtet! Diese Zunahme ist also lokalisiert in der nicht mit Phosphorwolframsäure fällbaren Fraktion der Hy-S: ein wertvoller Hinweis! Der freie Blutzucker stieg bei alledem nur bis zum  $2\frac{1}{2}$ –3fachen seines Anfangswertes.

Auch im enteiweissten Portalblut dieser Tiere zeigte sich die „Difference value“ stark erhöht; als Ursache dieser Erhöhung wollen sie die Anwesenheit

grosser Mengen von Maltose und von Dextrinen nachgewiesen haben: wie sie dies getan haben, sagen sie leider nicht.

Die normale „Difference value“ betrage nach ihnen beim 12 Stunden hungernden gesunden Menschen im Mittel 0,04 pro mille und höchstens 0,06 pro mille (112, S. 105). Nach Verabreichung von Nahrung sahen auch sie die „Difference value“ absinken, je nachdem der freie Blutzucker anstieg. Ihres Erachtens wird alles zugeführte Kohlenhydrat sofort in der Leber festgelegt. Fängt der freie Zucker wieder zu sinken an, so steigt auch die „Difference value“ wieder bis zu ihrem früheren Wert. Diese Ergebnisse verlaufen also den von den italienischen Autoren am Gesamt-Hy-S des Plasma festgestellten vollkommen parallel.

Gesunde Hunde zeigten gleiches Verhalten.

2. Ausser dem Ernährungszustand hat man bisher nur einer anderen physiologischen Variablen seine Aufmerksamkeit geschenkt und zwar dem Alter. Randoïn (453, S. 247) hat zu diesem Zweck Bestimmungen ausgeführt an Hunden, Pferden und Hühnern; bestimmte Ergebnisse wurden aber nicht erhalten, was die Hy-S betraf; der freie Blutzucker aber war bei jungen Tieren immer höher als bei alten.

3. Das Verhalten der Hy-S beim Winterschlaf besprochen wir schon S. 187.

## **XVIII. Der „gebundene Zucker“ des Blutes unter pathologischen Umständen.**

Man hat schon bei einer ganzen Reihe von pathologischen Zuständen das Verhalten der Hy-S untersucht, und glaubte dabei einige Gesetzmässigkeiten feststellen zu können im Auftreten bestimmter quantitativer Änderungen. Darüber wollen wir im folgenden eine kurze Übersicht geben. Es sei aber gleich am Anfang bemerkt, dass es sich hier nur um quantitative Änderungen der Gesamt-Hy-S handelt, dass wir aber nichts wissen betreffs der Frage, auf welche Fraktion der Hy-S sich die Änderung in einem bestimmten Falle bezieht, dass also all diese Versuche und Beobachtungen nur orientierenden Wert haben. Weiter sei darauf aufmerksam gemacht, dass sowohl die bei pathologischen Zuständen von Bierry c. s. seit 1920 ausgeführten Bestimmungen als diejenigen von Condorelli c. s. immer aus später zu erörternden Gründen an Plasma, und nicht an Vollblut ausgeführt wurden (39a, 39b, 39c, 62, 136).

### **A. Stoffwechselkrankheiten.**

#### **1. Diabetes.**

Was die Befunde bei der Zuckerkrankheit betrifft, so scheint diese im höchsten Masse beeinflusst zu werden 1. von der Technik der Bestimmung, 2. vom Charakter der Erkrankung.

Bei der langdauernden Hydrolyse nach Bierry-Fandard fand Bordet (84) im Plasma bei der häufigsten unkomplizierten Form von floridem Diabetes nahezu normale Hy-S-Werte, und auch Gigon (225) konnte in seinen wenigen untersuchten Fällen nichts Charakteristisches feststellen, weder vor noch nach Insulinverabreichung.

Bei kurzdauernder Hydrolyse nach Condorellis Methode konnten aber sowohl dieser Autor (129, 130, 137) wie Caltabiano (106, 107) feststellen, dass Diabetiker in ihrem Plasma wenig, ja oft sogar gar keine Hy-S besaßen. Eine Insulingabe von 20 Einheiten genügte aber in Condorellis Fällen schon um den Hy-S-Wert von Null auf 82% des freien Blutzuckers ansteigen zu lassen. Aus Caltabianos Zahlen kann man den gleichen Einfluss des Insulins entnehmen.

Cambridge (112, S. 431, Abb. 62) spritzte einem Diabetiker nüchtern Insulin ein; der freie Blutzucker sank zuerst stark ab, um später wiederum anzusteigen; daneben beobachtete auch er von Anfang an ein ziemlich gleichmässiges Ansteigen der „Difference value“, d. h. der Hy-S im mittels Phosphorwolframsäure enteiweissten Blute. Dennoch wog diese Steigerung in den ersten Stunden nicht die Erniedrigung des freien Zuckers auf, so dass der Gesamtzucker doch eine vorübergehende tiefe Senkung zeigte. Dies alles liesse sich gut vereinigen mit der Hypothese von Major und Davis (372), dass Insulin die Blutglucose umsetze in eine Substanz, die zwar noch Kupferlösungen reduziere, aber nicht mehr von der Niere durchgelassen werde. Das könnte dann sowohl der normale Blutzucker als die erste Etappe beim Aufbau der Hy-S sein.

Bisweilen auch fanden die Untersucher gerade einen erhöhten Hy-S-Gehalt, nicht nur absolut, sondern dann und wann sogar auch relativ im Verhältnis zum schon erhöhten freien Zucker [Gruat und Rathery (241), Bisceglie (73), Brugi (89)]. Nach Bordet (84) komme dies in vielen Fällen auf Rechnung der bei schweren Diabetesfällen so oft sub finem vitae auftretenden Niereninsuffizienz, welche, wie wir später noch sehen werden, oft zu einer Steigerung der Hy-S Anlass gibt. Aber dennoch kommen Fälle vor, wo diese Ursache mit Sicherheit ausgeschlossen werden konnte. In solchen Fällen sah Bisceglie (l. c.) unter Einfluss des Insulins den freien Blutzucker zwar absinken, aber die Hy-S erreichte noch höhere Werte. Denselben Effekt hat in solchen Fällen Hungern; während dies in leichten Fällen ein Absinken der Hy-S bewirkt, hat es in schweren ihre Steigerung zur Folge, besonders wenn Koma droht [Bierry und Rathery (59), Desgrez, Bierry und Rathery (157)].

Das Verhalten der Hy-S bei Diabetikern nach Nahrungsaufnahme besonders nach Verabreichung von Glucose per os untersuchte Condorelli (129, 130, 131, 138); es zeigte sich ziemlich unregelmässig: bisweilen trat Senkung auf, meistens aber Steigerung. Diese Steigerung war am stärksten

bei den Individuen, die nüchtern einen niedrigen Hy-S-Wert aufwiesen, fehlte aber, wenn nüchtern schon ein ziemlich normaler Hy-S-Gehalt vorhanden war.

Auch die in der Fraktion der „Difference value“ vorhandene Hy-S ist nach Cammidge und Howard (112) bisweilen bei pankreasdiabetischen Patienten sehr stark vermehrt (bis auf 0,50—4,64 pro mille!). Nach Nahrungsaufnahme beobachtete er eine Senkung, die einige Stunden andauerte, wonach die Difference value wieder auf ihren früheren Wert zurückkehrte. Dabei schien es von untergeordneter Bedeutung, welcher Art die Nahrung war; nach einer gemischten Mahlzeit, nach ausschliesslicher Fleischverabreichung und nach nur aus Kohlenhydraten bestehender Nahrung war der Verlauf der Kurve annähernd gleich. Die einzige Ausnahme trat auf, wenn die Mahlzeit zum grössten Teil aus dextrinierter Stärke bestand: dann war die Senkung der Difference value weniger steil und weniger tief als in den übrigen Fällen, offenbar dadurch, dass resorbierte Dextrine in den Kreislauf gelangten (l. c., S. 189).

Bestimmten Cammidge c. s. die Difference value gleichzeitig in Blut und Harn und brachten die erhaltenen Werte in eine Kurve, so zeigte sich bei diesen Diabetesfällen ein auffälliger Parallelismus zwischen den beiden Kurven, zum Beweis, dass die hydrolysierbare Substanz hier offenbar direkt aus dem Blute in den Harn übertritt (112, S. 190).

Der genannte Verlauf ist aber beim klinischen Diabetes nach ihnen keineswegs konstant. Erstens finden sie auch hier alle Varianten, die sie beim experimentellen Pankreasdiabetes festgestellt hatten, und die wir weiter unten noch wiedergeben werden. Auch hier soll gerade bei den schwersten Fällen die Difference value oft sehr gering sein und nach einer Mahlzeit nahezu bis auf Null absinken, während der freie Blutzucker seine Steigerung stundenlang fortsetzt. Daneben aber kommen ihrer Meinung nach Typen vor, die beim experimentellen Diabetes völlig unbekannt seien: so z. B. eine charakteristische vollkommene Unabhängigkeit zwischen den Kurven des freien Blutzuckers und der Difference value. Am häufigsten beobachteten die Autoren ein gleichmässiges Ansteigen der Difference value, unabhängig ob der freie Blutzucker anstieg oder absank. Es wurden Fingerzeige gefunden, dass dies diejenigen Fälle seien, bei denen auch die Leberfunktion gestört ist. Dass aber eine Anamnese von „bilious headaches“ (112, S. 194) in diese Richtung weisen sollte, scheint ein ausserordentlich unglücklich gewählter „Beweis“! Eine bessere Bestätigung ihrer Meinung lieferten die sofort noch wiederzugebenden Versuche derselben Autoren mit Hydrazin. Es bleibt aber ein, von Cammidge selbst anscheinend nicht bemerkter Widerspruch bestehen insoweit, dass er an der einen Stelle sagt, dass sowohl bei klinischen Diabetesfällen als bei Hydrazinvergiftung von Tieren das hydrolysierbare Kohlenhydrat mit dem Harn ausgeschieden werde (S. 194), an anderer Stelle (S. 144) aber gerade als für die Hydrazinvergiftung charakteristisch angibt, dass dies nicht geschehe.

Auf Fälle der zuletztgenannten Kategorie, Diabetiker mit erhöhter Hy-S,

beziehen sich wahrscheinlich auch die Angaben von Winter und Smith (539) betreffs der Anwesenheit von „Polysacchariden“ im diabetischen Blut. Wurden die schliesslich von ihnen erhaltenen zuckerhaltigen Blutauszüge kurz und mit wenig Säure hydrolysiert, so stieg das schon erhöhte rechtsdrehende Vermögen noch stark an, während das reduzierende Vermögen dann noch nahezu unverändert blieb; hydrolysierten sie aber länger und mit stärkerer Säure, so zeigte auch das reduzierende Vermögen eine Zunahme und schliesslich stimmten optische Rotation und reduzierendes Vermögen vollkommen mit denen eines  $\alpha$ - $\beta$ -Glucose-Gleichgewichtsgemisches überein. Nach Insulin-einspritzung war dieses Verhalten ganz anders: bei kurz dauernder Hydrolyse änderte sich das Verhältnis Rotation: Reduktion wenig oder gar nicht, und zwar am wenigsten bei dem Patienten, der von den Insulininjektionen am meisten Vorteil zog.

Die oben angeführten Besonderheiten spiegeln sich ab in den Tatsachen, die am Harn von Diabetikern beobachtet werden können. Dass beim Diabetes das reduzierende Vermögen des Harns durch seine saure Hydrolyse in gewissen Fällen noch weiter ansteigt, ist schon 1867 beschrieben worden von unserem Landsmann Bos (86). Als Besonderheit beobachtete er ausserdem noch, dass in den späteren Stadien der Krankheit bei seinem Patienten die hydrolysierbare Substanz wieder verschwand, was also genau mit den Befunden von Cammidge beim „Difference value“ des Blutes stimmt. Weiter fand Bos noch, dass etwa dieselbe Menge reduzierende Substanz als durch Hydrolyse in Freiheit gesetzt wurde, auch frei kam, wenn man den Harn desselben Patienten ohne weiteres 48 Stunden stehen liess. Das erinnert an Lépinés „sucre virtuel“ im Blute und wäre einer Bestätigung mit moderner aseptischer Technik wert! Später haben Folin und Berglund (202) sich mit demselben Gegenstand beschäftigt. Nach Cammidge (112, S. 179) erhält man, wenn man den Harn von Patienten oder Versuchstieren mit defektem Pankreas mit HCl hydrolysiert, neutralisiert und mittels Phenylhydrazin das Osazon daraus herstellt, eine viel grössere Menge Osazonkrystalle als aus normalem Harn. Es stellte sich heraus, dass die in diesem Falle vorhandene Hy-S von Sublimat gefällt wird. Später hat er noch zuvor aus dem Hydrolysat mittels basischem Bleiacetat die Glykuronsäure entfernt. Dabei bleibt dann noch die in Frage stehende Substanz in Lösung, und es gelang ihm auch dann noch ein Osazon herzustellen. Dies wies alle physikalischen und chemischen Eigenschaften eines Pentosazons auf. Auf Grund dieser Feststellung arbeitete er dann ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung desselben aus, bei dem die Pentose als Furfurol jodometrisch bestimmt wurde (sog. Jodkoeffizient). Viel schneller gelangte er aber zum Ziel, als er auch hier einfach das reduzierende Vermögen vor und nach Hydrolyse mit Säure, also die „Difference value“, bestimmte. Dabei entfernte er aber die störenden Substanzen und die Glykuronsäure nur mit basischem Bleiacetat (112, S. 187).

## 2. Bei den übrigen Stoffwechselkrankheiten.

Bei den meisten übrigen Stoffwechselkrankheiten: bei Arthritismus, bei Morbus Basedowii, bei Diabetes insipidus, Adipositas usw. konnte Brugi (89) nichts Besonderes feststellen. Cammidge (111) beobachtete an mehreren Fällen von Akromegalie eine deutliche Steigerung der „Difference value“, sowohl des Blutes als des Harns.

## 3. Carcinom.

Weiter müssen wir auch dem Carcinom, unabhängig von seinem Sitze, hier bei den „Stoffwechselkrankheiten“ einen Platz einräumen, nicht nur, weil die Hy-S bei Krebskranken charakteristische Änderungen gegenüber der Norm aufzuweisen scheint, sondern auch deshalb, weil die chemische Natur der an diesen Änderungen beteiligten Substanzen aufs engste mit dem Wesen des Tumors zusammenzuhängen scheint.

Fast alle Autoren fanden im Blute von Krebspatienten erhöhte, oft sogar sehr hohe Hy-S-Werte. Das hatte schon 1885 Freund (zit. nach 216, S. 32 und 284, S. 14) festgestellt; die Beobachtung war nachher von Leyden und Trinkler (zit. nach idem) bestätigt worden. Friends Zahlen, die sich nur auf ganz wenige Fälle bezogen, waren folgende:

	Reduzierendes Vermögen des Blutes	
	vor Hydrolyse pro mille	nach Hydrolyse pro mille
Normal . . . . .	1,10	1,20
Carcinom . . . . .	1,70	2,50
„ . . . . .	2,60	3,30
Sarkom . . . . .	0,90	1,20

Bald aber hat man diese wichtigen Befunde vergessen, bis Spence (zit. nach idem) sie 1922 aufs neue entdeckte. Auch jetzt wieder folgten von verschiedenen Seiten Bestätigungen. So fand z. B. auch Condorelli (131, 133) bei vier Leberkrebsen im Plasma Werte von bzw. 0,76, 0,74, 1,07 und 1,16 pro mille gegen 0,42 normal. Bierry, Rathery und Levina (67) konnten mit anderer Technik Hy-S-Werte von 1,14—2,66 pro mille feststellen gegen 0,80 normal; Bordet (84) fand sogar 4,00 pro mille bei einem Bauchtumor unbekannter Natur bei einem 15jährigen Mädchen. Die höchsten Werte wurden beobachtet bei Kranken mit vielen Metastasen und deutlicher Kachexie. Sub finem vitae beobachtet man aber bisweilen ein Absinken auf sehr niedrige Werte.

Gegenüber dieser allgemein bestätigten Steigerung der Hy-S steht eine ebensolche Erhöhung des freien Blutzuckers, die aber meistens in engeren Grenzen bleibt; so betrug dieser in den zitierten Fällen Bierrys 0,99—1,64

pro mille. Doch bestätigt auch dieser Befund die übliche Angabe, dass beim Krebs der freie Zuckergehalt steige. Mit Recht hat aber Lépine (323, S. 321) darauf hingewiesen, dass noch niemals unzweideutig festgestellt wurde, dass dabei tatsächlich Glucose im Spiel ist. Aber trifft dies nicht für alles, was mit dem Blutzucker zusammenhängt, zu?

Bei den Carcinompatienten mit stark erhöhtem Hy-S-Gehalt gelang es seine vorübergehende starke Erniedrigung hervorzurufen dadurch, dass man ihnen per os oder intravenös 20 g Glucose verabreichte [Condorelli (138)]; das Gelingen dieses Versuchs darf man vielleicht als einen Hinweis betrachten, dass es keineswegs ein müßiges Trachten wäre, bei dieser Labilität des Hy-S-Gehaltes auch diese Stoffwechselanomalie medikamentös zu beeinflussen.

Auf anderen Wegen sind Freund und Kaminer (216, S. 23) für den Gesamtkohlenhydratgehalt des Blutes zu ähnlichen Ergebnissen gelangt, wie oben für die Hy-S angegeben. Ihnen fiel die Intensität der Molisch-Reaktion in der Euglobulinfraktion des Serums von Carcinompatienten auf beim Vergleich mit Normalserum. Nun haben aber erstens Loeper und Tonnet [zit. nach Bordet (84)] festgestellt, dass bei Krebspatienten eine deutliche Zunahme des Serumglobulins nachweisbar sei, und zweitens wissen wir aus den schon früher wiedergegebenen Versuchen Condorellis, dass wenigstens unter normalen Umständen weitaus der grösste Teil der Hy-S sich im Globulin-niederschlag vorfindet. Es erscheint also kaum gewagt vorauszusetzen, dass auch bei den Versuchen von Freund c. s. es sich um die Hy-S gehandelt hat.

Bei weiterer Verfolgung dieser abnorm verstärkten Molisch-Reaktion stellte sich heraus, dass diese speziell auf Rechnung des in Natriumcarbonat löslichen Anteils des Euglobulins, also des sog. Nucleoglobulins, komme; diese Substanz sei es auch, die Krebszellen gegen Zerstörung durch Normalserum schützt (216, S. 34). Sie enthalte neben kolloidalen Kohlenhydraten eine stickstofffreie ungesättigte Dicarbonsäure (l. c., S. 50) und bilde sich in der Darmwand (l. c., S. 56 usw.) unter Einfluss von bzw. aus einer bestimmten Fettsäure des Darminhalts, die besonders aus Palmitin reichlich entstehe (l. c., S. 68). Nach Meinung der Autoren (216, S. 22; 284, S. 34) werde normales Kohlenhydrat von Carcinomserum zerstört, das an der genannten pathologischen Fettsäure (Mol.-Gew. 300) gekuppelte aber nicht. Letzteres fördere gerade das Wachstum des Tumors und schütze die Tumorzellen vor Zerstörung. Es befinde sich, wie gesagt, in der Euglobulinfraktion des Serums, und zwar sei es beteiligt am Aufbau eines Nucleoglobulins, das einen auffallenden Reichtum an Phosphor und an Kohlenhydrat aufweise: wiederum also dieselbe Kombination von Fettsäure, Phosphat und Kohlenhydrat, wie sie auch im vielumstrittenen Jecorin vorliegen müsste! Im Blute von Krebskranken sollte es gerade die Fettsäure sein, die das Kohlenhydrat ans Nucleoglobulin bindet (216, S. 61); sie soll aber schon durch einfache Extraktion mit Äther aus der

Euglobulinfraktion isolierbar sein (l. c., S. 23), was wohl sehr stark gegen die von den genannten Autoren angenommene chemische Bindung spricht. Übrigens liegt in dieser leichten Zersetzbarkeit wiederum eine Parallele zum früher beschriebenen Verhalten des „Jecorins“.

Betreffs der Natur der Säure, die in normalem, also Krebszellen zerstörendem, Serum vorkommt, haben diese Untersuchungen gleichfalls einige Klarheit gebracht. Sie soll ein Molekulargewicht von etwa 500 besitzen (216, S. 17), mit Äther aus dem Serum extrahierbar (also nicht chemisch gebunden!) sein, und den Charakter einer zweibasischen gesättigten Fettsäure haben. Bei Durchprüfung der ganzen Reihe von solchen Säuren, von  $C_2$  anfangend bis zu  $C_{12}$ , stellte es sich heraus, dass nur die zweibasischen Säuren mit  $C_{4n}$  und unverzweigter Kette carcinolytisch wirkten, die übrigen, auch aus vielen anderen Reihen, nicht. Von diesen selben Säuren mit  $C_{4n}$  ist auch bekannt, dass sie die einzigen sind, aus denen bei Leberdurchströmung Diacetsäure gebildet wird (Emden und Friedmann, zit. nach 216, S. 19). Um das erwähnte Molekulargewicht von etwa 500 zu erreichen, würde man das Vorhandensein einer Säure  $C_{32}H_{62}O_4$  (Molekulargewicht 510) voraussetzen müssen, die dann auffallenderweise nahezu das Doppelte der üblichen, in den Fetten vorhandenen Fettsäuren repräsentieren würde.

Auch hier wieder gibt der Harn, wie es scheint, einigermaßen ein Spiegelbild der im Körper sich vollziehenden pathologischen Prozesse. So entdeckte Salkowski (zit. nach 216, S. 5; 284, S. 22) im Harn von Krebskranken ein kolloides, schwer dialysierendes, durch Säuren hydrolysierbares, stickstoffhaltiges Kohlenhydrat. Nachprüfungen seitens verschiedener anderer Autoren sollen gezeigt haben, dass es sich hier um „Oxyproteinsäuren“, d. h. also um gewisse Chitosaminderivate, gehandelt habe. Was davon aber der jetzigen Kritik noch Stand hält, bleibe vorläufig unentschieden.

## B. Blutkrankheiten.

1. Bei einem Falle von myeloider Leukämie fand Condorelli (131) ziemlich hohe Hy-S-Werte, und zwar 0,65 pro mille.

2. Nach Brugi (89) ist bei Blutkrankheiten im allgemeinen nichts Besonderes festzustellen, ausser wenn die Leber miterkrankt ist, wie bei Malaria und perniziöser Anämie. Nach welcher Richtung dann die Abweichungen liegen, sagt er aber nicht.

## C. Krankheiten des Kreislaufapparates.

Bei diesen sei nach Brugi (89) im allgemeinen nichts Charakteristisches festzustellen; bei dekompensierten Herzfehlern fand er fast immer eine absolute Erniedrigung des Hy-S-Gehaltes, in vereinzelt Fällen aber wurde im Gegenteil gerade eine Steigerung beobachtet.

Aus den von Bordet (84) mitgeteilten Zahlen ergibt sich, dass bei Herzkranken, die neben ihren übrigen Insuffizienzerscheinungen auch Symptome seitens der Nieren darboten, in denjenigen Fällen, wo Digitalispräparate den klinischen Zustand gebessert hatten, die Hy-S, verglichen mit der der übrigen Nierenkranken, immer niedrig war. Man wird sich fragen müssen, ob dies vielleicht eine spezifische Digitaliswirkung sei, um so mehr, wenn man sich des schon zitierten Befundes von György (245) erinnert, nach dem Digipurat das Auseinanderfallen der Hy-S— und zwar besonders der Hexosephosphate — des Herzmuskels bewirke.

### D. Krankheiten des Atmungsapparates.

Bei Krankheiten der Tonsille (Tonsillitis parenchymatosa, Adenoid) beobachtete Condorelli (131) nach Verabreichung von 20 g Glucose eine auffallende Steigerung der Hy-S. Ob dies nur ein zufälliger Befund ist, oder ob die Sache von grösserem Gewicht ist, wird erst die Zukunft lehren können.

Bei Erkrankungen des übrigen Respirationsapparates konnte Brugi (89) nichts Besonderes feststellen, nur mit den folgenden Ausnahmen: bei akuten Erkrankungen von Lunge und Pleura war immer sowohl „freier Blutzucker“ als Hy-S erhöht; bei Tuberkulose war der freie Zucker normal, die Hy-S aber sowohl relativ als absolut zu hoch. Dasselbe fand im letzteren Falle auch Condorelli (133, 135): nach ihm sei sogar bisweilen die Steigerung der Hy-S sehr beträchtlich. Auch die Zahlen von Caltabiano (106) bestätigen dies, und schliesslich kamen auch Bordet, Rathery und Levina (84) zum selben Ergebnis, besonders für die weit vorgeschrittenen Fälle von Schwind-sucht.

### E. Krankheiten des Digestionsapparates.

Auch diese bieten nach Brugi (89) in ihrer Gesamtheit nichts Charakteristisches dar, eine Ausnahme bilden hier aber die Lebererkrankungen. Rapisardi (458) war der erste, der beobachtete, dass dabei die Hy-S bisweilen vollkommen fehlt, in anderen Fällen aber gerade erhöht ist. Condorelli (131) konnte dies vollkommen bestätigen: von den 30 beobachteten Fällen besaßen 18 einen erhöhten, 7 einen normalen, 4 einen verminderten Hy-S-Gehalt, und letzterer fehlte vollkommen in einem Falle (125). Auch die von Caltabiano (106) veröffentlichten Zahlen zeigen solche grosse Unterschiede.

Brugi (88, 89) hat dies alles noch genauer präzisiert: Bei Lebertumoren sei meistens der Hy-S-Gehalt sowohl absolut wie relativ erhöht; in diesem Falle verhielt der freie Blutzucker sich nahezu normal; war aber die Hy-S wenig erhöht, so zeigte gerade der freie Zucker auffallend hohe Werte. Dasselbe gelte auch für die Laennecsche Cirrhose. Beim Icterus catarrhalis, Icterus neoplasticus und der Hanotschen Cirrhose steige sowohl der freie Zucker als die Hy-S. Fälle von Stauungsleber sollen, wie schon erwähnt, meistens eine absolute Erniedrigung der Hy-S gegenüber einer

Erhöhung des freien Zuckers aufweisen. Bei Hepatitis chronica luetica, Malarialeber, Gallenstein seien wiederum beide Werte erhöht, während bei Echinokokkose beide normal seien. Schliesslich war bei akuter gelber Leberatrophie und infektiösem Ikterus der freie Blutzucker erhöht, die Hy-S hingegen annähernd normal. [Feigl (185) fand im Harn bei einem Falle von akuter gelber Leberatrophie eine Substanz, die vor Hydrolyse kaum, danach aber kräftig reduzierte: nach ihm sei es vielleicht ein Hexosephosphat gewesen.) Den Verlauf der alimentären Glykämie bei verschiedenen Lebererkrankungen hat, was die Hy-S betrifft, Condorelli (131) studiert. Aber, obwohl nicht weniger als 30 verschiedene Fälle untersucht wurden, gelang es ihm nicht, einige Gesetzmässigkeit dabei zu entdecken, ausgenommen die Tatsache, dass die Änderungen des freien Blutzuckers immer der Richtung nach denen der Hy-S entgegengesetzt waren.

Erinnert man sich der von Bierry und Mme. Randoin behaupteten individuellen Konstanz des Hy-S-Wertes, so ist es interessant, hier einmal die Zahlen zu betrachten, die in einer von Condorellis Arbeiten (138) mitgeteilt werden. Dieser Autor hat an verschiedenen Patienten einige Male hintereinander, jedesmal mit einem Zwischenraum von einigen Tagen, morgens nüchtern die Blut-Hy-S bestimmt, mit folgendem Ergebnis:

	Erstes Mal Hy-S pro mille	Zweites Mal Hy-S pro mille	Drittes Mal Hy-S pro mille
Gesundes Individuum . . . . .	0,47	0,47	—
„ „ . . . . .	0,40	0,42	0,47
Gallenstein, Stauungsikterus . . . . .	0,21	0,52	—
Stauungsleber . . . . .	0,41	0,43	—
„ . . . . .	0,80	0,92	—
Laennecsche Cirrhose . . . . .	0,54	0,25	—
Lebercarcinom (sekundär), Ikterus . . . .	1,11	0,97	—
Lebercarcinom (primär?), sub finem vitae	0,21	0,19	—
Diabetes . . . . .	0,58	0,96	—

Man sieht, dass die genannte Regel in diesen pathologischen Fällen wohl oft, aber nicht immer gilt.

Mit den oben erwähnten Befunden eines auffallend niedrigen Wertes der Hy-S bei manchen Leberkranken stimmt auch die Beobachtung von Cammidge (112, S. 456), nach der bei Individuen mit deutlicher Obstipation, die meistens zugleich Zeichen von Leberinsuffizienz darbieten, oft eine negative „Difference value“, d. h. Abnahme des reduzierenden Vermögens des mittels Phosphorwolframsäure enteiuweisssten Blutfiltrates durch saure Hydrolyse auftrate. Dieser klinische Zustand sei gekennzeichnet durch einen hohen Gehalt an Aminostickstoff, an Tryptophan und an Phenol in Blut

und Harn; da dies bekanntlich an Glykuronsäure gepaart ausgeschieden wird, und wir auch wissen, dass Glykuronsäure bei Hydrolyse von der Säure leicht zerstört wird, wird man Cammidges Verluste vielleicht auf Rechnung dieser Kohlenhydratsäure schreiben dürfen. Reinigt man den Darm mit Kalomel oder irgendeinem anderen Abführsalze, so werde die Hy-S wiederum normal.

Bei unkomplizierten Fällen von Pseudolävulosurie steige im Blute nach der Mahlzeit die „Difference value“ an, während der freie Blutzucker absinke (112, S. 159).

## F. Krankheiten des Urogenitalapparates.

Hierbei hat man bisher nur den Einfluss untersucht, den Nierenkrankheiten auf den Hy-S-Wert des Blutes haben. Nach Bordet (84), dem Forscher, der zuerst diese Kategorie von Patienten systematisch studiert hat, sind besonders hier nur Bestimmungen im Blutplasma, oder im Notfalle in Serum, brauchbar, da bei Verwendung von Gesamtblut die Ergebnisse zu unregelmässig seien; ausserdem soll der Kranke nüchtern sein. Die von Caltabiano (106) mitgeteilten Zahlen zeigen aufs deutlichste, dass die Erhöhung der Hy-S das für diese Fälle Charakteristische ist. Und man kann noch weiter gehen: aus den Zahlen, die Bordet (l. c.) bei seinen klinischen Beobachtungen erhielt, kann man den Schluss ziehen, dass die Hy-S bei allerhand Nierenerkrankungen dem klinischen Zustande parallel ansteigt und absinkt: Erhöhung zu oft exzessiven Werten bei klinischer Verschlimmerung, Erniedrigung bei klinischer Besserung und unter Einfluss der Therapie, Rückkehr zur Norm bei völliger Genesung. Diese Beobachtungen fanden in Palombellas (428) Erfahrungen eine vollkommene Bestätigung.

So regelmässig sei dieser Zusammenhang der Erscheinungen zu beobachten, dass Bordet es auf Grund seiner damaligen, selbstverständlich noch ziemlich beschränkten, Beobachtungen für möglich hielt, wenn auch vorläufig mit vielen Reserven, ein prognostisches Urteil zu fällen auf Grund des Hy-S-Wertes im Blutplasma. Darauf kommen wir sofort nochmals zurück.

Bei schweren akuten Nephritiden fand Bordet (84) schon innerhalb einiger weniger Tage eine unzweifelhafte Erhöhung der Hy-S; vorläufig betrachtete er, auf Grund seiner, wie er selbst sagt, noch zu wenigen, Erfahrungen Werte über 2,00 pro mille als prognostisch ungünstig. Bei Quecksilbernephritis wurde von ihm der ausserordentlich hohe Wert von 3,0 pro mille im Plasma angetroffen.

Mit anderer Technik fanden Palombella (428) und Brugi (89) bei akuten Nephritiden ohne Urämie, mit oder ohne Hypertension, die Hy-S ebenso wie die freien Zuckerwerte für gewöhnlich normal.

Bei chronischen Nephritiden begegnet man hohen Werten von etwa 3,0 pro mille nur wenige Wochen oder Monate vor dem Tode, besonders in den

Fällen, bei denen eine an Krebs oder perniziöse Anämie erinnernde protrahierte Kachexie bestanden hat; Werte über 2,0 pro mille sollten auch hier den baldigen fatalen Ablauf erwarten lassen. Man dürfe aber nur dann diese schlechte Prognose stellen, wenn wiederholt solche Werte gefunden werden, ganz abgesehen von kurzdauernden akuten Verschlimmerungen. Im Anfang einer chronischen Nephritis sei die Hy-S normal oder nur wenig erhöht: sie bleibe dann immer unterhalb 1,0 pro mille [Bordet (84)].

Auch später (83) hat dieser Autor seine Befunde aufrechterhalten gegenüber der von italienischer Seite geübten Kritik. Denn offenbar gleichfalls bei solchen, nicht-urämischen, Fällen von chronischen Nephrosen und Nephritiden sah Brugi (89) nichts Auffälliges, und auch Condorelli (133) gab an, dass Nephrosen und Glomerulonephritiden mit Hypertension und mässiger Azotämie nichts Charakteristisches an „freiem Blutzucker“ oder Hy-S aufwiesen.

In einigen anderen Mitteilungen hatte er aber in Übereinstimmung mit Bordet angegeben, dass bei schwereren Fällen von Glomerulonephritis und Urämie mit starker Azotämie die Hy-S deutlich erhöht war, wobei aber das Verhältnis zum gleichfalls erhöhten freien Zucker normal blieb (131, 135). Palombella (428) konnte letzteres vollkommen bestätigen.

Schon Bierry und Rathery (61) kamen aber bei ihren Untersuchungen an 40 Fällen zum Schluss, dass bei chronischen Nephritikern, bei denen die Hy-S erhöht ist, diese Erhöhung zwar oft, aber doch keineswegs immer von einer Erhöhung des Harnstoffgehaltes begleitet wird; ihres Erachtens sei ein hoher Hy-S-Gehalt des Blutes an sich prognostisch schlechter als ein hoher Harnstoffgehalt mit niedrigem Hy-S-Wert. Sie betrachteten den abnorm hohen Hy-S-Gehalt bei Nephritikern als das vollkommene Analogon des erhöhten „freien Zucker“-Gehaltes beim Diabetes (63). Auch gegenüber späterer Kritik bleibt Bordet (83) noch bei seiner Meinung: welches aber die chemische Natur der an dieser Erhöhung beteiligten Substanz sei, lässt er auch jetzt noch unentschieden. Während er aber früher angegeben hatte, dass zu einer hohen Azotämie auch eine hohe Hy-S gehöre, zu einer niedrigen Azotämie ein niedriger Hy-S-Wert, sei es auch, dass von einer engeren Proportionalität keine Rede sei (84), so hat Palombella (428) jeden Zusammenhang zwischen beiden entschieden verneint. Vielleicht beruhen diese entgegengesetzten Meinungen auch in diesem Falle wieder auf technischen Differenzen.

Zwischen Hypertension und Hy-S-Gehalt des Plasma vermissten sowohl Palombella (428) wie Condorelli (133) jeden Zusammenhang. Der letztgenannte Autor meint, man müsse scharf unterscheiden zwischen Glomerulonephritis, die immer von Hypertension begleitet werde, und Nierenarteriosklerose, bei der die Hypertension fehlen könne. Bei Arteriosklerose der Gefässe in Niere und übrigen Körper, von Hypertension begleitet, sowohl wie bei Arteriosklerose mit Hypertension ohne Nierenläsionen könne der freie Blutzucker ansteigen, während die Hy-S des Blutes unverändert bleibe und

deshalb sogar relativ absinke. Brugi (89) bestätigte es. Nach Condorelli sei dies alles auf Rechnung einer übermässigen Adrenalinämie zu schreiben.

Gabbe (220) glaubte bei Hypertension eine Steigerung des Gehaltes an durch Takadiastase oder Emulsin zerlegbarer Hy-S der roten Blutzellen feststellen zu können. Vorausgesetzt, dass alle diese Beobachtungen richtig gewesen sind, müsste man also annehmen, dass dieser Steigerung eine Abnahme der Hy-S im Plasma gegenüber stehe.

Bei Stauungsniere endlich waren nur geringe Abweichungen von der Norm zu beobachten, mit Ausnahme von denjenigen Fällen, wo auch die Leber erkrankt war [Palombella (428), Condorelli (133), Brugi (89)].

## **G. Krankheiten des Nervensystems.**

Hierbei fand Brugi (89) nichts Besonderes.

## **H. Fieberhafte Erkrankungen.**

Im allgemeinen lieferten diese hohe Hy-S-Werte [Condorelli (133, 135); Caltabiano (106)]; am höchsten waren die beim Bauchtyphus beobachteten Werte, und zwar bis zu 1,33 pro mille. Brugi (89) bestätigte dies: seines Erachtens bleibe aber dabei das Verhältnis zum freien Zucker normal.

Übersehen wir am Ende das Ganze noch einmal, so tritt deutlich hervor, dass bei weitaus den meisten Krankheiten, mit Ausnahme nur von gewissen Fällen von Diabetes und Lebererkrankungen, der Hy-S-Gehalt eine Erhöhung aufweist. Nach Bordet (84), Chatrovitch (117) und anderen muss man darin mehr ein allgemeines Zeichen eines gestörten Stoffwechsels als ein für bestimmte Krankheiten pathognomonisches Zeichen sehen. Eine bessere Einsicht in ihren wahren Charakter wird man aber erst dann erwarten können, wenn unsere Kenntnisse nach der qualitativen Seite hin die so sehr erwünschte Vertiefung gefunden haben werden.

# **XIX. Experimentell-pathologische Beeinflussung des „gebundenen Zucker“-Gehaltes des Blutes.**

## **1. Pankreatektomie.**

Bierry, Rathery, Gournay und Kourilsky (64) geben an, dass partielle Exstirpation des Pankreas, sogar wenn man fünf Sechstel der Drüse wegnimmt, zu keiner nennenswerten Änderung des Hy-S-Gehalts im Blute führe. Nach Totalexstirpation aber steige nicht nur der freie Blutzucker an, sondern auch die Hy-S; die Stärke dieser Erhöhung sei aber individuell ausserordentlich wechselnd. In dieser Hinsicht verhalte sich also der experimentelle Diabetes wie schwere Formen des klinischen. An der Steigerung sei

nach Lépine (323, S. 202) besonders der bei 58° sich ohne weiteres abspaltende „Sucre virtuel“ beteiligt.

Der Befund Bierrys wurde von Nitzescu und Popescu-Inotesti (419) vollauf bestätigt: auch diese Autoren fanden bei vollkommen pankreaslosen Hunden nach 24stündigem Hungern immer eine Steigerung der Hy-S über die Norm, obwohl die Werte unterhalb der des freien Blutzuckers blieben. Demgegenüber sah Condorelli (125) in einem Falle von Totalexstirpation des Pankreas mit Abbinden der Arteria pancreaticoduodenalis die Hy-S auf Null absinken; in anderen Fällen, wo diese Arterie unbeeinträchtigt blieb, oder das Pankreas nur teilweise entfernt wurde, blieb die Hy-S nahezu unverändert.

Wiederum anders waren die Ergebnisse des englischen Klinikers Cammidge (112, S. 106), nach denen nach partieller Pankreasexstirpation das hungernde Tier eine ganz enorme Erhöhung der „Difference value“, d. h. der Hy-S im mittels Phosphorwolframsäure enteiweissten Blute, aufweise; sobald aber Nahrung verabreicht wird, sinke dieser ab, um innerhalb einiger Stunden ein ausserordentlich tiefliegendes Minimum zu erreichen und dann allmählich wiederum anzusteigen.

Entfernte er aber mehr von der Pankreasdrüse, so lag die „Difference value“ des hungernden Tieres weniger hoch, und nach Exstirpation auch der letzten Pankreasreste war sie sogar sehr niedrig und sank nach Fütterung sogar auf Null herab. Dies war wenigstens das Ergebnis der ganz wenigen Versuche, die es Cammidge möglich war, anzustellen, in jeder Beziehung behindert von der in England geltenden Vivisektions-Gesetzgebung. Die Deutung dieser Ergebnisse sei nach Cammidge die, dass das Pankreas mit seinem internen Sekret den Abbau des Glykogens hemme: bei vollständig vorhandenem Pankreas sei die Hemmung nahezu vollkommen, bei vollständigem Fehlen der Drüse fehle alles Glykogen, das für Abbau in Betracht komme; daher die niedrige „Difference value“ in beiden Fällen. Aber gerade nach den teilweisen Exstirpationen sei die Hemmung unvollkommen, und es gelangen seines Erachtens teilweise depolymerisierte Kohlenhydrate in den Kreislauf, die zu den hohen Difference value-Werten Anlass geben.

Insulin bewirkte in den Versuchen von Nitzescu c. s. (419) in den ersten Stunden nach der Einspritzung noch eine weitere Steigerung der an sich schon erhöhten Hy-S; doch erreiche diese ihres Erachtens niemals so hohe Werte als sie am gesunden Tiere beobachtet zu haben glauben (s. S. 223). Auch stimme das Maximum dieser Steigerung zeitlich nicht mit dem Minimum des freien Zuckers überein, denn letzterer sei beim diabetischen Tiere nach 6 Stunden noch immer im Absinken begriffen, und bleibe sogar nach 8 bis 10 Stunden noch niedrig; die Hy-S fällt, nach der geringen anfänglichen Erhöhung, alsbald gleichfalls ab, wenn auch langsamer als der freie Zucker, und gelangt bisweilen sogar nach 8—9 Stunden unter die Norm.

In einem Versuche Caltabianos (107) besass ein normaler Hund einen Hy-S-Wert von 0,42 pro mille; 6 Tage nach Pankreasextirpation war der Wert auf etwa 0,22 pro mille abgesunken. Spritzte er nun dem Tiere jeden 2. Tag ein- oder zweimal 5 Einheiten Insulin ein, so bewirkte dies keinerlei nennenswerte Ausschläge, weder nach der einen noch nach der anderen Seite. Aus dem Protokoll lässt sich aber nicht ersehen, ob das Tier während dieses Versuches immerfort hungerte oder Nahrung bekam.

## 2. Abbinden des Ductus Wirsungianus

bewirkte nach Lépine (331) eine Erhöhung der Hy-S, und besonders der Fraktion, die schon beim blossen Stehen reduzierende Substanz abspaltet (331, 335).

## 3. Nierenschädigungen.

Unter dem Eindruck der bei vielen nephritischen Prozessen zu beobachtenden Erhöhung der Hy-S hat man einigemal versucht, solche Zustände auch experimentell zu reproduzieren. So haben Bierry, Rathery und Bordet (63, 84) normalen, nicht spontan-nephritischen Hunden beide Harnleiter unterbunden; sowohl vor als nach dem Eingriff wurde im arteriellen Plasma neben vielen anderen Blutbestandteilen auch die Hy-S bestimmt. Die Tiere überlebten die Operation nur 2—3 Tage; dabei stieg zwar der Hy-S-Gehalt, aber es blieben doch immer die Werte weit hinter den in der Klinik beobachteten zurück. Auf Grund dieses Ergebnisses glauben sie, hinter der chronischen Nephritis des Menschen stecke noch eine tiefere Anomalie des Stoffwechsels.

Morita (399) hat dieselbe Operation an Kaninchen vorgenommen; anfangs sank der durch Hydrolyse mit HF bestimmte Hy-S-Wert, im urämischen Stadium war er aber oft beträchtlich über die Norm erhöht, wenn auch bei weitem nicht so stark wie der freie Blutzucker.

Auch die Ergebnisse dieser Versuche stimmen also in befriedigender Weise überein.

## 4. Punktion des vierten Ventrikels (Zuckerstich).

Bei diesem klassischen Experimente der Physiologie sinkt nach Condorelli die Hy-S auf Null herab (125, 127), während der freie Blutzucker bekanntlich stark ansteigt. Dies ist eine äusserst wichtige Beobachtung; da es aber, wie es scheint, bei diesem Eingriff auf peinlichste Befolgung der richtigen Technik ankommt, wollen wir hier seine Beschreibung in extenso übernehmen:

Präventive Blutstillung mittels einer hämostatischen Ligatur durch die Hinterhauptmuskulatur des Kaninchens. Sodann legt man die Membrana atlanto-occipitalis frei und durchbohrt diese links und rechts, etwa 2 mm von der Medianlinie entfernt, in einer transversalen Linie, die auf halber Höhe durch die Membran verläuft. Durch beide Löcher sticht man mit dem stumpfen Ende einer Sonde, bis diese etwa einen Millimeter tief in den Boden des vierten Ventrikels gedrungen ist; dabei braucht man diesen selbst nicht freizulegen. Dann schliesst man Muskeln und Haut wieder durch Naht. In dieser Weise gelinge die Operation ohne Ausnahme.

Schon nach einer Stunde ist die Hy-S des Blutes auf Null gesunken, während der freie Blutzucker auf immer höhere Werte steigt.

### **5. Vagusreizung.**

Vagusreizung verursacht eine Steigerung der „Difference value“ im mittels Phosphorwolframsäure enteiweissten Blute [Cammidge (111, 112 S. 197)].

### **6. Gehirnerschütterung.**

Erhält ein Hund einen sehr kräftigen Stoss vor den Kopf, so tritt neben einer starken Erhöhung des freien Blutzuckers eine enorme Steigerung des Hy-S-Gehaltes des Lebervenenblutes auf [Lépine (323, S. 234)].

### **7. Röntgenbestrahlung.**

Nach Röntgenbestrahlung beobachtete Lépine (323, S. 270) gleichfalls eine mehr oder weniger starke Steigerung der Hy-S.

### **8. Erhöhung der Körpertemperatur**

durch Verbleiben im Brutschrank (Lépine 342) oder durch ein heisses Bad [Condorelli 125] bewirkt ebenso einen sehr starken Anstieg der Hy-S.

### **9. Erniedrigung der Körpertemperatur.**

Demgegenüber bewirkt Erniedrigung der Körpertemperatur durch ein kaltes Bad ebenso prompt eine beträchtliche Senkung der Hy-S [Condorelli (125), Bierry und Ranc (57)]. Doch übertreffe nach den zuletztgenannten Autoren die gleichzeitig zu beobachtende Steigerung des freien Blutzuckers die genannte Senkung quantitativ noch bei weitem. Nach Mme. Randoïn (453, S. 239) sei der Erfolg des beschriebenen Eingriffs aber sehr wechselnd und sehr gering.

### **10. Blutverlust**

scheint ebenso wechselnden Erfolg zu haben, je nach dem Zustande, in dem sich das Individuum befindet. An einem normalen Hunde konnte Bordet (84) ebensowenig wie Mme. Randoïn (453, S. 240) etwas Besonderes feststellen; bei Kranken mit erhöhter Hy-S aber zeigte sich nach einem Aderlass von wenigstens 50 ccm eine deutliche Erniedrigung derselben. Lépine und Boulud beobachteten eine solche auch bei normalen Versuchstieren; an anderer Stelle aber (331, 335) erwähnen sie gerade eine Steigerung der sich schon beim einfachen Stehen abspaltenden Fraktion. Kombinierten sie den Blutverlust mit

### **11. Hungern,**

so sank die Hy-S gleichfalls ab; Glykogen und Fett waren zum grössten Teil verschwunden, der freie Blutzucker hingegen stieg an (333).

Auch Hungern allein ist von grossem Einfluss. Dass dieses allein schon die Blut-Hy-S beträchtlich herabsetzen kann, ergibt sich unter anderem aus den Versuchen Condorellis (129), wo sie, als Glucose berechnet, bei 24 kleinen Kaninchen nach 24stündigem Fasten im Mittel nur 0,19 pro mille betrug gegen 1,22—1,38 pro mille normal. Weitere Daten liefert noch eine andere Veröffentlichung desselben Autors (127), und auch aus unseren eigenen Bestimmungen können wir einige wenige Zahlen anführen, wo bei hungernden Kaninchen die Hy-S im Mittel nur 0,37‰ betrug gegen 1,22‰ normal. Wir haben die Ergebnisse folgendermassen gruppiert:

24 Stunden hungernde Kaninchen.

Gewicht der Tiere in Gramm	Zahl	Hy-S im Mittel pro mille	Autor
700—1000	13	0,17	Condorelli (127, 129)
1000—1250	9	0,22	„
1250—1500	6	0,24	„
1500—1750	2	0,38	„
1750—2000	10	0,40	„
2000—3450	4	0,37	Grevenstuk

Es scheint aus dieser Tabelle deutlich hervorzugehen, dass, je kleiner und jünger das Tier ist, um so stärker sich der Hy-S-Gehalt des Blutes durch 24stündige Nahrungsentziehung erniedrigen lässt. Vielleicht läge hier auch die Erklärung, warum wir, wie sofort noch näher zu besprechen ist, bei unseren eigenen schweren Kaninchen mit Insulin keine deutliche Zunahme der Hy-S erzeugen konnten, Condorelli hingegen bei seinen soviel kleineren Tieren wohl. In dieser Weise glaubten wir, wenigstens eine Schwierigkeit aus dem Wege geschafft zu haben. Gross war aber unser Staunen, als wir die von Caltabiano mit derselben Condorellischen Technik erhaltenen Werte in gleicher Weise ordneten, denn es stellte sich heraus, dass hier das Ergebnis gerade entgegengesetzt war:

24 Stunden hungernde Kaninchen.

Gewicht der Tiere in Gramm	Zahl	Hy-S im Mittel pro mille	Autor
1000—1250	17	0,35	Caltabiano(104,105,106,107)
1250—1500	11	0,20	„
1500—1750	4	0,11	„
1750—2000	—	—	„
2000	1	0,14	„

Hierbei ist zu bemerken, dass in der einen der genannten Veröffentlichungen für die Tiere von 1250—1500 g Körpergewicht Hy-S-Werte

angegeben werden von bzw. 0,19, 0,17, 0,15, 0,11, 0,13, 0,12 und 0,17 pro mille, während die in den beiden anderen Veröffentlichungen desselben Autors besprochenen Tiere derselben Gewichtsgruppe Werte aufwiesen von bzw. 0,31, 0,31, 0,36 und 0,20 pro mille. Die erstgenannte Arbeit nennt auch für die anderen Tiere, deren Gewicht stets zwischen 1500 und 1700 g lag, als Hy-S-Gehalt bzw. 0,15, 0,14, 0,16 und 0,00 pro mille. Woher dieser auffallende Unterschied? Spielt auch hier vielleicht die Jahreszeit eine Rolle, in derselben Weise, wie wir es jeden Frühling aufs neue für die Insulinempfindlichkeit des freien Blutzuckers feststellen können? Dann sei erwähnt, dass die beiden Veröffentlichungen mit hohen Hy-S-Werten erschienen im Mai, die mit den niedrigen Werten im Juli, so dass letztere vielleicht Versuche betrafen, die während der grössten (italienischen) Sommerhitze ausgeführt waren.

Auch Scott und Best (484) beobachteten bei hungernden Kaninchen und Hunden durch saure Hydrolyse eine nur geringe Zunahme des reduzierenden Vermögens.

Ganz anders aber wird das Ergebnis, wenn man solche Extreme wählt, dass die Grenzen des Physiologischen weit überschritten werden. Lässt man Hunde tothungern, so steigt die Hy-S allmählich zu immer höheren Werten an, so dass in der Agone, wenn „freier Blutzucker“ und Organglykogen auf ihr Minimum angelangt sind, die Hy-S gerade maximal ist [Lépine (323, S. 319); Bierry und Fandard (37, 41, 453 S. 237)].

Wir erwähnten schon, dass Pavy (433, S. 101 usw.) sogar unter ungünstigen äusseren Umständen bei hungernden Tieren in alkoholischen Extrakten von Pfortaderblut regelmässig eine Zunahme des reduzierenden Vermögens durch Hydrolyse mit Säure wohl feststellen konnte, wenn dies im peripheren Blute nicht mehr gelang.

## 12. Avitaminosen.

Mme. Randoin und Mlle. Michaux (456) erzeugten bei Meerschweinchen Skorbut (C-Avitaminose); dabei verschwand das Glykogen zum grössten Teil, aber nicht vollständig aus den Organen; der freie Blutzucker blieb nahezu normal, aber die Hy-S schien vom 16. bis zum 20. Tage anzusteigen, um danach wiederum normal zu werden.

Zuvor hatte Mme. Randoin in Vereinigung mit Lelesz (454, 455) schon ähnliche Versuche bei Tauben-Beriberi (B-Avitaminose) angestellt mit äusserst sorgfältiger Technik. Auch hier war das Ergebnis, was die Hy-S betrifft, etwa dasselbe: eine ziemlich geringe Erhöhung der Hy-S, die aber in diesem Falle von einer beträchtlichen Steigerung des freien Blutzuckers begleitet war.

Schliesslich haben Bierry und Rathery (62)

## 13. Exstirpationen von Milz, Schilddrüse und Geschlechtsdrüsen ausgeführt, offenbar ohne deutlichen Erfolg.

## XX. Pharmakologische Beeinflussung des „gebundenen Zucker“-Gehaltes des Blutes.

Wie wir in einem der vorangehenden Kapitel gesehen haben, ist bei einigen pathologischen Zuständen, und zwar besonders bei einigen der praktisch wichtigsten, wie Carcinom, weit fortgeschrittener Niereninsuffizienz und Tuberkulose, der Hy-S-Gehalt des Blutes auffallend erhöht. Da es sich hier gerade um eine Reihe von Krankheiten handelt, denen wir bisher ziemlich machtlos gegenüberstehen, gewinnen die wenigen weit und breit in der Literatur zerstreuten Mitteilungen, nach denen es möglich sei, den Hy-S-Gehalt des Blutes entweder im ganzen, oder nur in bestimmten Fraktionen, experimentell zu beeinflussen, eine grosse Bedeutung. Zwar wissen wir noch kaum etwas vom Zusammenhang des pathologischen Prozesses mit der genannten biochemischen Abweichung, aber gewiss wird man diesem Punkte in nächster Zukunft seine Aufmerksamkeit widmen müssen, und dann erscheint es als ein unschätzbare Vorteil, wenn man schon über Mittel verfügen könnte, mit deren Hilfe es gelänge, eine der biochemischen Abweichungen willkürlich grösser oder kleiner zu gestalten. Die Methoden, die nötig sind, um die Wirkung eines bestimmten Pharmakons zu studieren, sind schon da; man weiss, welchen Zweck man befolgen will; ohne Zweifel eröffnen sich hier neue Wege, um in verschiedene Probleme der Pathologie von einer neuen Seite einzudringen.

### A. Erniedrigende Agenzien.

An allererster Stelle wollen wir darum, als das vielleicht praktisch Wichtigste, diejenigen Substanzen besprechen, die imstande sind, den Hy-S-Gehalt zu erniedrigen. Als solche hat man angegeben:

**1. Insulin.** Obwohl, wie wir nachher sehen werden, eine Anzahl von Forschern angeben, dass, je nachdem der freie Blutzucker unter Einfluss dieses Hormons absinke, die Hy-S mehr oder weniger ansteigt, haben einige andere Autoren im Gegenteil gerade eine Senkung auch der Hy-S gefunden. Vielleicht spielen technische Differenzen hierbei eine grosse Rolle, und man könnte so der im allgemeinen geeignetsten Methode auf die Spur kommen. Erstens wird eine geringfügige Senkung von mehr protrahiertem Verlauf, als die des freien Blutzuckers ist, angegeben von Simonnet und Mme. Randoïn (491); in unseren eigenen Versuchen kamen wir mit der gleichen Technik (nach Bierry) zum selben Ergebnis, aber gerade für die erste Stunde der Insulinwirkung. Und drittens hat Staub (502, S. 53), das Blut zuerst enteiuweissend nach Folin-Wu mit Natriumwolframat und dann das Filtrat nach Cammidge (d. h. mit HCl) hydrolysierend, bei drei, offenbar nicht in besonderer Weise vorbereiteten Kaninchen (von denen eines mit Urethan narkotisiert war!) gleichfalls eine Senkung der Hy-S gefunden.

Als die rumänischen Forscher Nitzescu und Popescu-Inotesti (418)

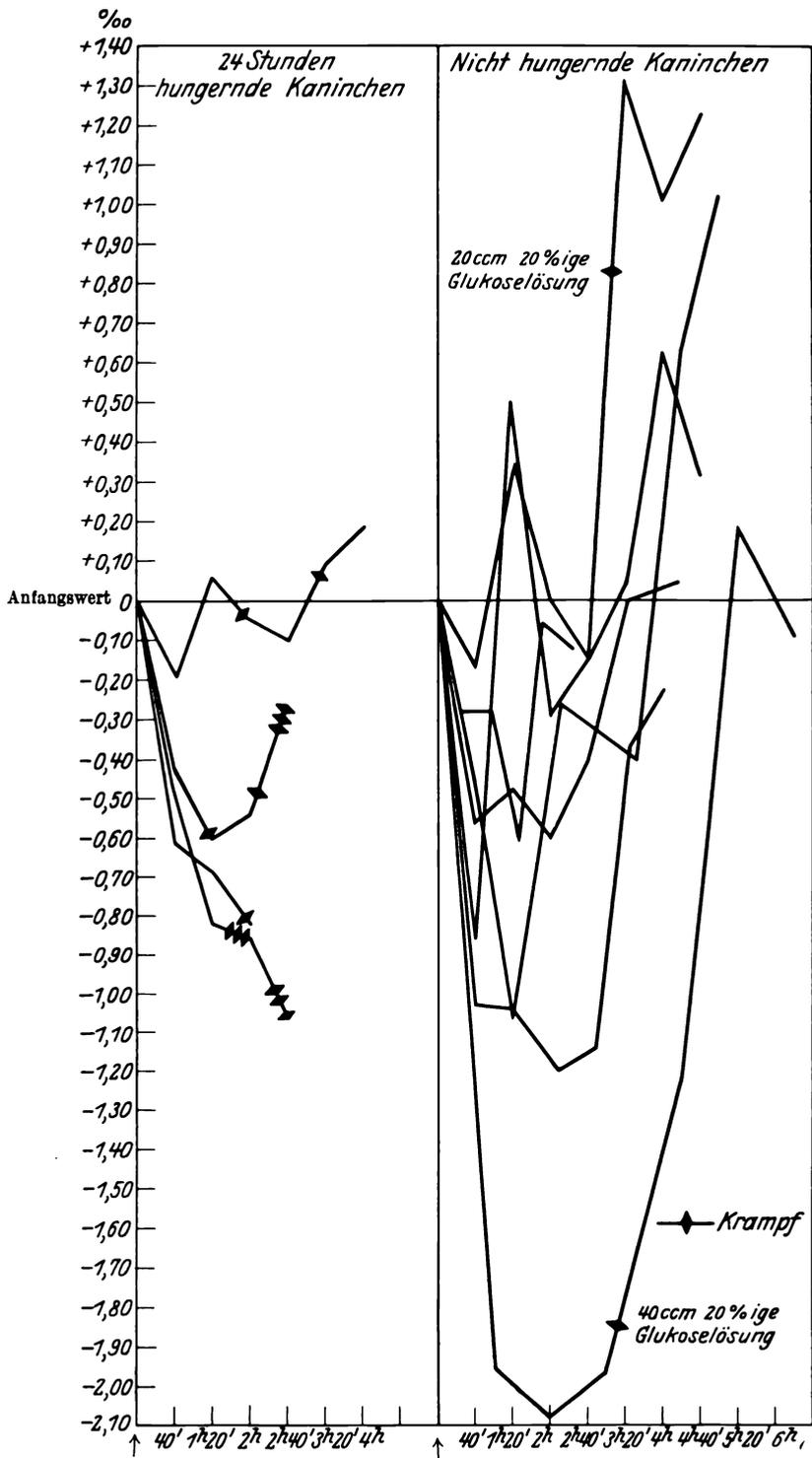


Abb. 2. Gesamtblutzuckergehalt. Jedes Kaninchen erhielt bei  $\uparrow$  3 Krampfgrenzdosen Insulin (= etwa 3,3 internationale Einheiten) subcutan. Der Anfangswert wurde gleich Null gesetzt; jede Kurve repräsentiert den Verlauf eines Versuchs.

als Erste eine Zunahme der Hy-S unter Insulineinfluss festgestellt zu haben glaubten, und als ihre Meinung aussprachen, dass der Schwund des freien Blutzuckers vielleicht einfach darauf beruhe, dass der freie Zucker in die gebundene Form übergehe, war dies eine für das Verständnis des ganzen Insulinproblems überaus wichtige Frage; wir entschlossen uns darum alsbald, die Untersuchung in etwas abgeänderter Form (Vermeidung von Narkose usw.) zu wiederholen. Wir benutzten dazu unsere eigene, an die von Bierry und Moquet anlehrende Technik, und führten unsere Bestimmungen aus am Blute von Kaninchen (damals war uns die Notwendigkeit, Plasma oder Serum zu benutzen, noch nicht bekannt). Nebenstehend geben wir die Ergebnisse dieser Versuche in kurvenmässiger Darstellung wieder, den Anfangswert eines jeden Tieres gleich Null stellend. Zuallererst wollen wir die Kurve des Gesamtzuckergehalts (freier Blutzucker + Hy-S) betrachten (Abb. 2).

Schon beim ersten Anblick sieht man, dass für das Gesamtblut die Meinung der rumänischen Forscher nicht zutrifft, denn, entspräche die Zunahme der Hy-S der Senkung des freien Blutzuckers, so würde die Kurve horizontal oder mit einer ganz seichten Bucht nach unten verlaufen müssen. Von alledem zeigt sich nichts: bei allen Tieren ohne Ausnahme, sowohl den hungernden als den nichthungernden, trat in der ersten Stunde nach der Insulineinspritzung eine deutliche Senkung des Gesamtzuckergehalts ein, der dann, besonders bei den nichthungernden Tieren, sehr starke Schwankungen folgten.

Eine zweite bemerkenswerte Tatsache ist, dass bei der zuletzt genannten Gruppe in den späteren Phasen des Versuchs so oft, und bei fast allen Tieren mit gleicher Geschwindigkeit (man vergleiche die vielen von links unten nach rechts oben parallel ansteigenden Linien) eine Zunahme des Gesamtzuckergehalts eintritt. Wir wagen keine Erklärung, aber die Tatsache als solche verdient Erwähnung.

Zieht man vom Gesamtzuckergehalt den freien Zuckerwert ab, so bekommt man die Hy-S-Werte, die wir in untenstehender Kurve vereinigen (Abb. 3).

Man sieht: auch hier hat das Insulin keineswegs einen typischen Erfolg; einigemal bewirkt es eine Steigerung, ein andermal aber wieder eine Senkung, welche die des freien Blutzuckers noch übertrifft. Dieses Ergebnis möge beim ersten Anblick enttäuschend scheinen, bei näherer Betrachtung ist es äusserst wichtig. Denn beim Vergleich der linken Kurvengruppe (Hy-S der 24 Stunden hungernden Tiere) mit der rechten (gut genährte Tiere) fällt sofort auf, wieviel grösser die Ausschläge bei der letzten Gruppe sind. Dies zeigt, wie enge der Hy-S-Gehalt mit dem Ernährungszustand zusammenhängt; dass ein einziger Hungertag — bei dem der Mageninhalt eines Kaninchens sich kaum vermindert — einen so grossen Unterschied herbeiführen kann, liefert den Beweis, dass die Hy-S lebhaft am Stoffwechsel teilnimmt. Ein zweiter Beweis dafür ist wohl, dass eine einzige Insulineinspritzung den Hy-S-Gehalt

innerhalb weniger Stunden in so grosse Schwankung bringen kann. Und da die Werte, um die es sich hier handelt, absolut viel grösser sind als die

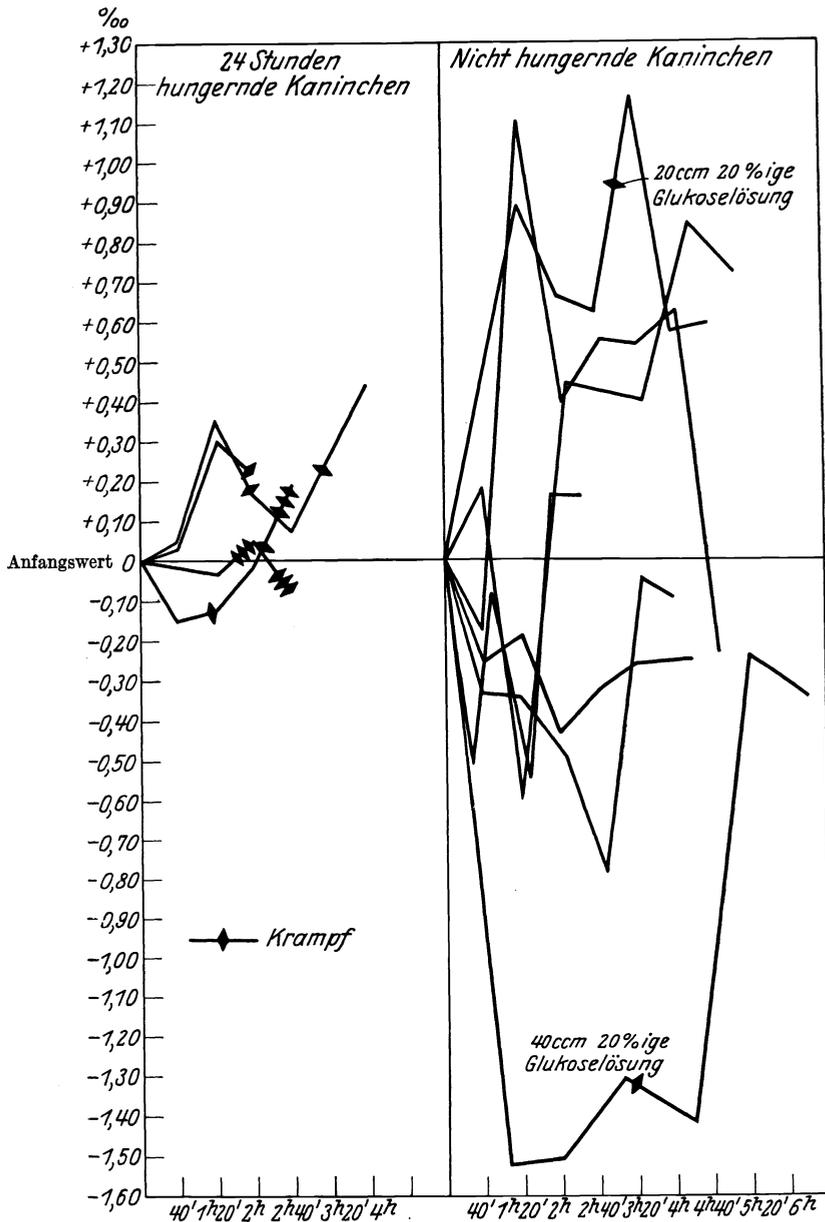


Abb. 3. Hy-S-Gehalt des Blutes in den in Abb. 2 wiedergegebenen Versuchen.

des freien Blutzuckers, muss man wohl schliessen, dass hier noch ein äusserst wichtiges Gebiet für spätere Untersuchungen liegt (236a).

Ein etwa gleiches Ergebnis erhielt auch Toscano (522) an Plasma eines Hundes, der nahezu einen Monat gehungert hatte, zum Zweck, seine Kohlenhydratreserven möglichst vollständig zu erschöpfen. (Zur Hydrolyse benutzte er die Condorelli-Methode, nur mit dem Unterschied, dass er nur

15 Minuten auf dem kochenden Wasserbade hydrolysierte, und deshalb keinen Autoklaven brauchte. Nach ihm habe diese Methode schon zuvor ihre Brauchbarkeit erwiesen. Wenn dies bestätigt würde, bedeutete es eine beträchtliche Vereinfachung der Hy-S-Bestimmung!) Toscanos Ergebnisse wollen wir, um den Vergleich mit unseren eigenen zu erleichtern, in gleicher Weise in Kurve bringen (Abb. 4).

Auch Toscano weist darauf hin, dass bei der Insulinvergiftung freier Blutzucker und Hy-S sich keineswegs konstant im entgegengesetzten Sinne ändern, dass deshalb keine Rede davon sein kann, dass der einfache Übergang von der einen Form in die andere alle beobachteten Erscheinungen erkläre.

McCormick, Macleod c. s. (150) äussern sich weniger positiv, aber verneinen doch jedenfalls eine regelmässige Zunahme der Hy-S. (Im Vorübergehen sei darauf hingewiesen, dass Macleod jetzt wohl eine Zunahme des reduzierenden Vermögens bei saurer Hydrolyse des normalen Blutes anerkennt, während er früher (367) eine solche entschieden verneint hat!)

Auch Bufano (98) beobachtete hauptsächlich Erniedrigungen der Hy-S unter Insulineinfluss, wenn er dieses einspritzte bei Tieren, die mit Phlo-rhizin vorbehandelt waren.

Vielleicht steckt die Ursache für den Gegensatz der Befunde bei Insulinverabreichung auch hier, wie so oft, wieder in kleinen Differenzen der Methodik der Hy-S-Bestimmung; vielleicht auch in der Wahl des Versuchstieres oder in der Reinheit des verwendeten Insulinpräparates. Aber es besteht noch eine Möglichkeit, und zwar die, dass das Pankreas neben dem Insulin, das auf den freien Blutzucker regulierend wirkt, noch ein anderes Hormon enthalte, das die Hy-S senken könne. Darauf könnte hinweisen der Befund von Cambridge und Howard (112, S. 110), dass ein Pankreasextrakt, hergestellt durch Zerreiben der zerkleinerten Drüse mit Sand in Locke-Lösung, imstande war, wenn ein Kaninchen damit eingespritzt wurde, dessen „Difference value“, d. h. die Hy-S des mit Phosphorwolframsäure enteweißten Blutes, vollkommen zum Verschwinden zu bringen, und das für Stunden. Obwohl die genannten Autoren offenbar nur eine beschränkte Zahl von diesbezüglichen Versuchen angestellt haben, und die Sache deshalb noch dringend der Bestätigung bedarf, erscheint dies ein interessanter Gegenstand für näheres Studium. Denn es ist bekannt, auch aus unserer eigenen Erfahrung, dass

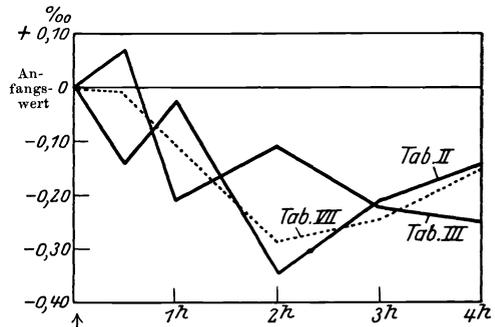


Abb. 4. Hy-S des Blutplasma bei hungernden Hunden (nach Toscano, 522). Das in Tab. II repräsentierte Tier erhielt am 22. Hungertag bei einem Körpergewicht von 6100 g 5 Einheiten Insulin, das in Tab. III erwähnte am 27. Hungertag bei 5700 g Körpergewicht 8 Einheiten Insulin. Das Tier der Tab. VII erhielt 6 Einheiten Insulin, nachdem es zuvor mit Adrenalin eingespritzt war.

Bei ↑ Insulininjektion.

solche rohen Pankreasextrakte oft vielmehr eine Steigerung als eine Senkung des freien Blutzuckergehaltes bewirken. Diese Erhöhung ist zum Teil gewiss unspezifisch und derjenigen gleichzustellen, die man nach parenteraler Verabreichung von allerhand Substanzen beobachtet. Daneben aber kommt in solchen Pankreasextrakten zweifellos eine spezifisch den freien Blutzuckergehalt erhöhende Substanz vor, die vor mehreren Jahren in unserem Laboratorium schon von Riebensahm aus Rohinsulin hergestellt wurde. Später hat de Jongh (282) ihr eine wichtige Rolle zugedacht zur Erklärung der bei der Eichung von unvollständig gereinigten Insulinpräparaten beobachteten Besonderheiten, und den Namen Anti-Insulin vorgeschlagen. Unter diesem Namen hat auch Funk (218) sie näher studiert; diesem Forscher gelang es ausserdem sie weiter zu reinigen, und mit dieser gereinigten Substanz exzessive Erhöhungen des freien Blutzuckers zu bewirken. Fragt man sich nun, woher all dieser Zucker komme, so erscheint es keineswegs absurd, vorauszusetzen, dass er ganz oder zum Teil aus der Hy-S abgespalten sei. Dann liegt es auf der Hand, die Identität des Antiinsulins mit Cammidges Hy-S-erniedrigender Substanz anzunehmen. Aber, wie gesagt, vorläufig ist dies alles noch Hypothese, und erst Versuche ad hoc werden entscheiden können, ob sie richtig ist.

**2. Adrenalin.** Condorelli (135, 136) spritzte acht gesunden Menschen 1 mg Adrenalin ein. Gleichzeitig mit der Steigerung des freien Blutzuckers, die nach etwa einer halben Stunde einsetzte und nach ungefähr einer Stunde maximal war, um dann wiederum abzusinken, zeigte die Hy-S des Plasma in relativem Sinne immer und im absoluten Sinne bisweilen eine Senkung, d. h. in absoluter Zahl blieb sie unverändert oder nahm um ein Geringes ab, um später wieder etwas anzusteigen. Mit 2 mg Adrenalin war die Steigerung des freien Blutzuckers höher, die Senkung der Hy-S tiefer. Brugi (89) konnte dies alles vollkommen bestätigen, und Gabbe (221) stellte fest, dass eine ähnliche Senkung auch konstant die durch Emulsin oder Takadiastase spaltbare Fraktion betrifft, die nach seinen Befunden der Hauptsache nach sich in den Erythrocyten vorfindet. Das stimmt gewissermassen mit den Ergebnissen von Lawaczek (317, 318), nach denen die anfängliche Senkung und die nachfolgende Steigerung im besonderen die Hexosephosphate betreffe, die, wie auch er feststellte, sich gleichfalls besonders in den roten Blutzellen anhäufen. Die absoluten Werte, um denen es sich im letztgenannten Falle handelt, scheinen aber ausserordentlich gering zu sein, so dass höchstwahrscheinlich der Hauptanteil der genannten Senkung der Hy-S auf Rechnung anderer Verbindungen kommt.

Phocas (441) gibt gleichfalls an, dass die Senkung des „Sucre virtuel“, diesmal bei hungernden Kaninchen, deutlich sei: die von ihm mitgeteilten Zahlen geben aber dazu kaum Grund. Er machte darauf aufmerksam, dass bei diesen Tieren die in den ersten 24 Stunden mit dem Harn ausgeschiedenen

Mengen Phosphat und Harnstoff stark zunehmen; vielleicht liegt hier ein Hinweis, welche Fraktion der Hy-S an all diesen Prozessen beteiligt ist.

Condorelli (125) bestätigt, dass bei normalen 24 Stunden hungernden Kaninchen Adrenalin immer ein Absinken der Plasma-Hy-S bewirke.

Auch die Wirkung bei Hunden stimmt im wesentlichen mit der bei Kaninchen und Menschen überein. Die Wirkung kolossaler Dosen (1 mg pro Kilogramm Tier bei 15—20 Stunden hungernden Hunden ohne Narkose intraperitoneal!) studierten Bierry, Rathery und Levina (67, 68); die Hy-S im arteriellen Plasma sank anfänglich ab (besonders, wenn Glykosurie ausblieb), um später wiederum anzusteigen und (bisweilen erst nach 72 Stunden) ein Maximum zu erreichen, wenn dasjenige des freien Zuckers schon längst

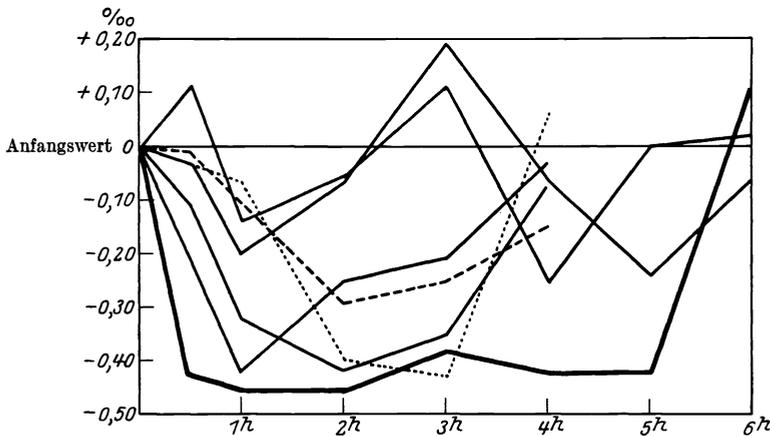


Abb. 5. Hy-S des Blutplasma bei 15—29 Tage hungernden Hunden [nach Toscano (522)].  
 — Adrenalin (0,5 mg). ..... Adrenalin nach Insulin. ---- Insulin nach Adrenalin.  
 — Insulin, zusammen mit Adrenalin.

vorüber war (16 Versuche). Es liegt also eine zweiphasische Wirkung, auch auf die Hy-S, vor, und dies erklärt, weshalb Forscher, die nur die zweite Phase beobachtet haben, dem Adrenalin eine ausschliesslich Hy-S-steigernde Wirkung zugeschrieben haben. Das linksdrehende Adrenalin wirke auch hier stärker als das rechtsdrehende, wenn auch im gleichen Sinne [Bierry und Rathery (62)]. Auch Phocas (C. r. Soc. Biol. 1917) stellte bei Hunden eine Senkung durch Adrenalin fest. Zum Schluss müssen wir noch die Aufmerksamkeit auf die Versuche Toscanos (522) lenken, bei denen die Technik nach Condorelli zur Verwendung kam, nur mit dem Unterschied, dass er nur 15 Minuten auf dem Wasserbade erhitzte, anstatt im Autoklaven. In der Absicht, seine Befunde übersichtlicher zu gestalten, haben wir sie kurvenmässig dargestellt (Abb. 5).

Dann stellt sich heraus, dass bei diesen seit sehr langer Zeit hungernden Hunden gleichfalls eine wenn auch etwas unregelmässig verlaufende Senkung der Hy-S auftritt.

Auf einen Versuch dieses Forschers wollen wir aber ganz besonders die

Aufmerksamkeit lenken, und zwar auf den, wo einem Hunde gleichzeitig Adrenalin und Insulin eingespritzt wurden. In diesem Falle bewirkte dies eine Senkung der Hy-S, die sowohl an Tiefe als an Dauer den Effekt der beiden Komponenten an sich bei weitem übertraf. Auch die Senkung des freien Blutzuckers war beträchtlich und von langer Dauer: trotzdem trat kein einziges abnormes Symptom auf. An erster Stelle erholte sich die Hy-S wieder, und zwar spontan, in einer Periode, als der freie Blutzucker noch immer nur 0,35 pro mille betrug.

Wenn weitere Untersuchungen diese anscheinend äusserst wichtige Beobachtung bestätigen, so stände uns hier vielleicht ein Mittel zur Verfügung, mit dem es gelingt, die Hy-S auf lange Zeit zu erniedrigen. Der Wert davon für experimentell-therapeutische Untersuchungen wird dem Leser der vorigen Kapitel ohne weiteres klar sein; auch biologisch wäre es höchst interessant, wenn sich herausstellen würde, dass tatsächlich Insulin und Adrenalin, die hinsichtlich des freien Blutzuckers sich antagonistisch verhalten, in bezug auf die Hy-S Synergisten wären. Sonderbarerweise scheint dies alles dem Autor selbst entgangen zu sein.

Weiter fand Toscano noch, dass, wenn durch Adrenalin die Hy-S stark absinkt, der freie Blutzucker immer zunimmt: das Hormon scheint also direkt auf die Blut-Hy-S einzuwirken.

Was schliesslich das Verhalten der Hy-S bei Kranken unter Einfluss des Adrenalins betrifft, so fand Condorelli (133, 135), dass hier die Verhältnisse viel komplizierter sind, so dass er sogar glaubt, nicht weniger als 4 Typen unterscheiden zu können, die jeder für sich dem bestimmten Individuum eigen sein sollten, ungeachtet dessen klinischen Zustandes. In einigen Fällen war hier die Senkung sehr beträchtlich.

**3. Pituitrin.** Es gibt bisher nur ganz wenige Arbeiten, die sich mit dieser Substanz beschäftigt haben. Condorelli (135, 136) beobachtete an sich selbst durch nur  $\frac{1}{2}$  ccm Infundibulin-Wellcome (das schon äusserst unangenehme vasomotorische Störungen verursachte!) neben einer flüchtigen und geringfügigen Steigerung des freien Blutzuckers eine gleichfalls flüchtige, aber schnelle und tiefe Senkung der Hy-S: 30 Minuten nach der Einspritzung war diese von 0,43 auf 0,23 pro mille abgesunken, während der freie Zucker in derselben Zeit von 0,78 auf 0,89 pro mille anstieg. Noch eine halbe Stunde später waren beide Werte wiederum normal geworden.

Mit einem anderen Präparate des Hypophysenhinterlappens konnte Brugi (89) dies bestätigen: in fünf Versuchen sah er stets neben einer geringen Steigerung des freien Zuckers eine flüchtige Senkung der Hy-S, etwa 30 bis 45 Minuten nach der Injektion.

Zu alledem kann der Befund Gigons (226) stimmen, dass bei hungernden gesunden Tieren Pituglandol den freien Zucker um ein Geringes erhöht, aber gleichzeitig eine Senkung des Gesamt-C bewirke. Auch vergleiche man mit

diesen Befunden die in vorigen Kapiteln aufgeführten Beobachtungen anderer Autoren betreffs des Einflusses, der von der Hypophyse und ihrer Umgebung sowie deren Extrakten ausgeübt wird auf „Gebundenes Fett“, „Jecorin“ u. a. m. Ohne Zweifel liegt auf diesem Gebiet noch hier und da etwas Wichtiges versteckt; dafür stimmen die meisten beobachteten Tatsachen zu gut, wenn wir auch im jetzigen Augenblick ihren ursächlichen Zusammenhang noch nicht übersehen können.

**4. Perfusate des Gefässsystems** normaler oder pankreasdiabetischer Hunde sollten, normalen Tieren eingespritzt, eine beträchtliche Erniedrigung sowohl des freien Blutzuckers als der Hy-S bewirken [Lombroso (358)]. Dies wurde aber mittels einer sehr abweichenden Technik festgestellt: es wurde das Blut nur wenige Minuten auf dem kochenden Wasserbade mit HCl erhitzt. Man wird deshalb eine Bestätigung mit der üblichen Technik abwarten müssen.

**5. Unbekannter Stoff.** Eine Substanz, deren chemische Natur er bisher sonderbarerweise verschwiegen hat, die aber eine ausserordentlich starke Senkung hervorrief, hat Bufano (98) Kaninchen eingespritzt. Hier folgen die erhaltenen Werte in pro mille:

Kaninchen Nummer	Vor	1 Stunde nach	2 Stunden nach	3 Stunden nach	4 Stunden nach
	der Einspritzung				
1	1,35	1,03	0,61	0,36	0,25
2	0,28	0,39	0,00	0,00	0,00
3	0,72	0,25	0,07	0,18	0,10

Daneben wies der freie Blutzucker eine viel geringere Senkung auf. Mit Recht weist dieser Autor darauf hin, dass, wenn die Hy-S solch imposante Schwankungen zeigen kann, sie nicht nur ein zufälliges Spaltungsprodukt der Bluteiweisse sein kann: derselbe Schluss, den wir a. a. O. aus unseren eigenen, vollkommen andersartigen Versuchen ziehen werden.

**6. Morphin** senkt nach Lépine (323, S. 360) den Hy-S-Gehalt stark; an anderer Stelle behauptet derselbe Autor aber gerade, eine Steigerung beobachtet zu haben (331); offenbar sind beide Schlüsse voreilig gewesen, denn nach Conti (140) sei die Senkung nach grossen Dosen (10 mg pro Kilogramm) wohl häufig, aber keineswegs konstant.

**7. Äthernarkose** bewirkt, neben starker Hyperglykämie, eine beträchtliche Senkung der Plasma-Hy-S [Conti (140)] (Versuche an etwa 12 Stunden hungernden Hunden, Blut aus der Ohrvene.) Zur Erzielung einer etwas genaueren Einsicht in den Mechanismus dieser Erscheinung hat er den Tieren den Bauch geöffnet und gleichzeitig in der Portalvene und den Venae hepaticae den Hy-S-Gehalt bestimmt. In allen sieben Versuchen fand er im Portalblute unmittelbar nach der Narkose den Hy-S-Wert höher als in den Lebervenen, mit nur einer Ausnahme, wo die beiden Werte gleich waren. Eine Stunde nach beendeter Narkose, wenn der freie Zucker schon wieder im Absinken begriffen war, traf er im Gegenteil in der Portalvene in ein paar Fällen die niedrigeren Werte. Auch auf diese Weise zeigt sich also, dass die Leber bei Aufnahme

und Abgabe der Hy-S des Blutes eine wichtige Rolle spielt, sei es, dass sie sie aufnimmt und ohne weiteres speichert, oder dass sie sie ändert bzw. zerstört. Conti schreibt deshalb auch die von anderer Seite mitgeteilten Abweichungen des Hy-S-Gehaltes im Blute bei Leberkrankheiten auf Rechnung einer Dysfunktion dieses Organes.

**8. Diphtherietoxin**, Hunden eingespritzt zum Zweck, eine Nephritis auszulösen und in dieser Weise die Hy-S zu erhöhen, bewirkte im Gegenteil gerade eine Senkung derselben [Bordet (84)].

**9. Äthylalkohol** (absolut), in Mengen von 1 ccm 12 Stunden hungernden Meerschweinchen eingespritzt, war in seiner Auswirkung unsicher [Condorelli (125)].

**10. Phlorhizin** zeigte in den Versuchen Bufanos (98) auf die Hy-S seit 2 Tagen hungernder Kaninchen so verschiedene Wirkungen, dass man kaum von einem charakteristischen Effekt reden konnte. Dies spricht gewiss nicht für die Ansicht Lépinés, dass der in diesem Falle mit dem Harn ausgeschiedene Zucker in der Niere aus der Hy-S des Blutes abgespalten sei. Spritzte Bufano nach dem Phlorhizin Insulin ein, so sank meistens die Hy-S mehr oder weniger stark ab.

**11. Histamin** (0,50 mg) und **12. Pepton** ( $1\frac{1}{2}$  ccm 10%ige Lösung), Meerschweinchen eingespritzt, erzeugen einen Shock, bei dem die Hy-S um 30—40% sinkt, der freie Blutzucker hingegen um 50—100% und mehr zunimmt (16a). Auch bei Kaninchen kann man durch 20 ccm 10%ige Peptonlösung intraperitoneal den Hy-S-Gehalt des Blutes sehr stark senken, z. B. von 0,77 auf 0,07‰, von 1,30 auf 0,27‰ usw. Das Minimum wird etwa  $1\frac{3}{4}$ —2 Stunden nach der Einspritzung erreicht; sogar 24 Stunden später aber ist oft der Hy-S-Wert noch unter der Norm. Daneben ist 2 Stunden nach der Injektion der freie Zucker so stark erhöht, dass die Summe von freiem und gebundenem „Zucker“ immer noch beträchtlich über der Norm liegt [Chahovitch c. s. (115a)].

13. Schliesslich erwähnen wir hier noch den Befund Pollaks (445), nach dem **Ergotamin**, eine Stunde vor einer Operation eingespritzt, der Steigerung des Blutzuckers durch Aufbinden usw. vorbeugt; nach Hetényi und Pogány (261) verhindere es auch das Zustandekommen der alimentären Hyperglykämie. Verhindert es nun auch gleichzeitig das Auseinanderfallen der Hy-S? Was ist bei einem so vorbehandelten Tiere der Effekt des Nackenstichs?

## B. Steigerung der Hy-S

hat man beschrieben nach:

**1. Insulin.** Gegenüber den verschiedenen schon erwähnten Befunden bezüglich einer Senkung des Hy-S-Gehalts durch dieses Hormon steht eine ganze Reihe anderer, nach denen es eine unzweifelhafte Steigerung desselben bewirke.

Die erste diesbezügliche Mitteilung stammt von Nitzescu und Popescu-Inotesti (418). Sie glaubten feststellen zu können, dass nach Einspritzung von Insulin bei narkotisierten Hunden die Hy-S im arteriellen Plasma in den ersten 2 Stunden nahezu unverändert blieb, dann aber schnell anstieg bis zu einem Maximum (im Mittel um etwa 49% seines Anfangswerts), das nach  $3\frac{1}{2}$ —4 Stunden erreicht wurde, gleichzeitig mit dem Minimum des freien Blutzuckers. War das genannte Maximum einmal erreicht, so sank die Hy-S alsbald schnell wieder ab, sogar bis zu subnormalen Werten. Doch wog die Zunahme der Hy-S, als Zucker berechnet, nie vollständig die Abnahme des freien Zuckers auf.

Bierry, Rathery und Kourilsky (65) wiederholten den Versuch an 24 Stunden hungernden nichtnarkotisierten Hunden. Sie arbeiteten mit amerikanischem, englischem und selbst angefertigtem Insulin und auch mit einem Insulinphosphate; ebenso regelmässig, als der freie Blutzucker absank, beobachteten sie in ihren Versuchen, von denen sie sieben mitteilen, eine Steigerung der Hy-S des Plasma. Genau dieselbe Beobachtung machten sie auch an einem pankreaslosen Hunde und an vier Diabetikern. Es möge darauf hingewiesen werden, dass dieses Ergebnis also dem von Bierrys früherer Mitarbeiterin Mme. Randoin zusammen mit Simonnet erhaltenen (s. S. 213) diametral gegenübersteht.

Scott und Best (484) fanden, dass die Hy-S im Blute hungernder Hunde und Kaninchen durch Insulin von Null auf mehr als 70% des freien Blutzuckers anstieg, wie sie mittels Hydrolyse mit 1%iger Schwefelsäure oder Digestion mit Trypsin zeigen konnten. Auch hier wiederholt sich also die sonderbare Erscheinung, dass ihre Ergebnisse im Gegensatz stehen zu denen ihres früheren Chefs Macleod (s. S. 217).

Weiter hat Condorelli (129, 137) eine große Zahl von Versuchen ausgeführt an 24 Stunden hungernden kleinen Kaninchen. Verwendet wurde Insulin-Lilly und -Antolini. In 19 von 20 Versuchen war während der Insulinhypoglykämie, ungeachtet des Auftretens oder Fehlens von Krämpfen, die Hy-S im Plasma absolut (und in allen 20 Fällen relativ) stark gestiegen im Verhältnis zum freien Blutzucker. Aber auch in diesem Falle wog die Steigerung der Hy-S keineswegs völlig die Senkung des freien Zuckers auf, so dass die Summe beider, als Glucose berechnet, nur etwa die Hälfte der normalen betrug. Dies war möglich dadurch, dass bei diesen 24 Stunden hungernden Tieren der Hy-S-Gehalt im Anfang ausserordentlich niedrig war, und zwar im Mittel nur 0,19 pro mille; diese Zahl stieg unter Einwirkung des Insulins auf (im Mittel) 0,49 pro mille. Die Dosis des Hormons betrug dabei 1—10 der 1923 gebräuchlichen Einheiten; die Bestimmung geschah 1 bis 3 Stunden nach der Einspritzung. Auch kleinere Dosen von 0,2 Einheit bewirkten noch die gleiche Steigerung der Hy-S (137).

Wie diese Widersprüche zu den Ergebnissen einer Reihe von anderen

Forschern wahrscheinlich zu erklären sind aus Unterschieden in Gewicht und Alter der Versuchstiere, und daneben vielleicht auch aus geringen Unterschieden der technischen Verarbeitung, haben wir an anderen Orten schon besprochen. Hier folgen noch in kurvenmässiger Darstellung die Ergebnisse derjenigen Versuchen Condorellis (137), bei denen an ein und demselben Versuchstier der Verlauf des Hy-S-Gehalts unter Einfluss des Insulins durch serienweise Bestimmungen verfolgt wurde (Abb. 6).

Auch nach kleinen Insulindosen konnte Condorelli, wie gesagt, eine starke Zunahme der Hy-S beobachten; diese Zunahme soll schon anfangen, noch bevor der freie Blutzucker abzusinken anfängt.

Auch intravenös eingeführter Zucker werde nach ihm in Hy-S umgesetzt; er meint nun, dass das Insulin eine so schnelle Umsetzung des freien Zuckers

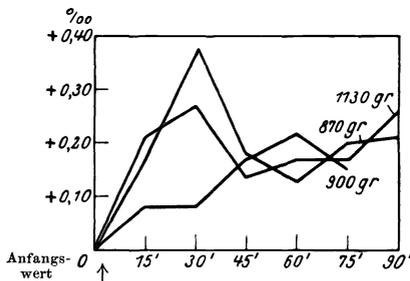


Abb. 6. Hy-S des Blutplasma bei 24 Stunden hungernden kleinen Kaninchen nach Einspritzung (↑) von 5 Einheiten Insulin [nach Condorelli (137)].

in Hy-S — mit nachfolgender Festlegung derselben in den Geweben — bewirke, dass die Leber mit ihrer Zuckermobilisierung damit nicht Schritt halten könne und unvermeidlich Hypoglykämie auftrete, ausser wenn man z. B. mit Adrenalin die Bildung von Zucker aus Glykogen aufpeitsche.

Bisceglie (73) hat bei einem normalen Kaninchen, dessen Hy-S nur 16% des „freien Blutzuckers“ betrug, nach Einspritzung nur einer Einheit Insulin eine Steigerung derselben bis auf das Dreifache beobachtet, während der freie Zucker auf 0,31 pro mille absank; demnach betrug die Hy-S dann fast den doppelten Wert des freien Zuckers.

Selbst bis auf das Dreifache beobachtet, während der freie Zucker auf 0,31 pro mille absank; demnach betrug die Hy-S dann fast den doppelten Wert des freien Zuckers.

Schliesslich sahen auch Bufano und Carra (beide zit. nach Condorelli (139), sowie Caltabiano und Liotta [beide zit. nach Glassmann (230)] den Hy-S-Gehalt stark ansteigen unter Einfluss des Insulins, sowohl bei normalen Individuen während der Insulinhypoglykämie, als auch bei Diabetikern und pankreasdiabetischen Hunden, wenn unter Einfluss des Hormons die Ketonstoffe aus dem Blute verschwanden (s. weiter Diabetes S. 196 usw.).

Auch Cammidge glaubte (109) eine Zunahme der Hy-S unter Einfluss des Insulins feststellen zu können; offenbar hat er in seiner üblichen Weise mit Phosphorwolframsäure enteweißtes Blut hydrolysiert.

Gabbe (221) konnte die Zunahme wenigstens zum Teil in der mit Emulsin oder Taka-Diastase spaltbaren Fraktion lokalisieren, d. h. in der, welche sich hauptsächlich in den Erythrocyten vorfindet. Damit bestätigte er die Angabe Hynds (272), dass unter Insulineinwirkung sich die Hy-S der Erythrocyten in noch stärkerer Masse vermehren sollte als die des Plasmas. Angesichts der Tatsache, dass es auch hauptsächlich die Erythrocyten sind, welche die Phosphatester der Zucker beherbergen (s. S. 133 usw.), stimmt hierzu auch wieder

der Befund von Lawaczek (317, 318), dass Insulin den Hexosephosphatgehalt des Blutes erhöhe, wenn auch die von diesem Autor festgestellten Werte im absoluten Sinne ausserordentlich niedrig sind und weit hinter den für die Gesamtsteigerung festgestellten zurückbleiben.

Sogar die alten Versuche Lépines (331, 335, 338), nach denen intravasculäre Injektion von rohen Pankreasextrakten oder Pankreatin die Fraktion der Hy-S, die sich schon beim einfachen Stehen spaltet, steigen lässt, finden in Gabbes Ergebnissen ihre Bestätigung.

Dass Insulin, oder wenigstens Pankreaspräparate, auch sogar *in vitro* bei Anwesenheit von überlebenden Organen eine Hy-S entstehen lassen kann bzw. können, hat sich bei den äusserst sorgfältig ausgeführten Versuchen Clarks (119, 120) herausgestellt. Hierbei wurden nacheinander Pankreas und isoliertes Herz mit derselben Flüssigkeit unter sorgfältiger Wahrung der Sterilität durchströmt. Aus der dazu benutzten Lockeschen Lösung verschwand die Glucose, aber es stellte sich heraus, dass sich dafür eine nicht reduzierende Substanz gebildet hatte, die entweder durch zweistündige Hydrolyse am Rückflusskühler mit 1%iger Salzsäure, oder durch einfaches Stehen während 24 Stunden bei 37° unter Zusatz einer Spur Chloroform oder Toluol wieder in einen einfachen Zucker zurückverwandelt werden konnte. Auch dieser Zucker sollte also in seinen Eigenschaften übereinstimmen mit der Fraktion der Hy-S, die als Lépines „Sucre virtuel“ bekannt ist. (Vgl. auch die soeben zitierten Befunde Gabbes!)

In seiner zweiten Untersuchung hat Clark (120) diese Erscheinungen noch näher zu zergliedern gesucht. Die Durchströmung des Pankreas allein mit Locke-Lösung von physiologischem Zuckergehalt erniedrigte zwar die optische Rotation des Perfusats, aber daneben blieb das reduzierende Vermögen unverändert; dasselbe beobachtete Clark, auch wenn er einem zuckerfreien Pankreasperfusat Glucose zusetzte und das Gemisch dann in den Brutschrank stellte. Die in dieser Weise erhaltenen Flüssigkeiten lieferten Osazone mit niedrigerem Schmelzpunkt als Glucosazon; wurden sie aber zuvor mit einer schwachen Säure hydrolysiert, so stiegen sowohl die optische Rotation als die Schmelzpunkte der Osazone wieder. Diese Änderungen zeigten sich nur unter den beschriebenen Umständen, und fehlten vollkommen, wenn statt Glucose Fructose verwendet wurde, wenn statt Pankreasperfusat Pankreasextrakt mit Glucose vermischt wurde, oder wenn Herz-, Nieren- oder Milzperfusate zur Verwendung kamen.

Wurde aber zuckerhaltige Locke-Lösung zuerst durch ein Pankreas und nachher durch ein überlebendes Herz geleitet in oben beschriebener Weise, so fanden nicht nur die oben erwähnten Änderungen statt, sondern auch das reduzierende Vermögen zeigte die in seinen ersten Versuchen schon beschriebene Senkung. Wurde auch hier wiederum mit Säure hydrolysiert, dann wiesen nicht nur die optische Rotation und die Schmelzpunkte der

Osazone, sondern auch das reduzierende Vermögen eine deutliche Steigerung auf. Wurde ein Herz allein oder zusammen mit Milz oder Nieren durchströmt, so zeigte sich von alledem nichts; ebenso vermisste man die genannten Erscheinungen, wenn Pankreas und Herz mit Flüssigkeit durchströmt wurden, der statt Glucose Fructose zugesetzt war.

Gegen all diese mustergültig ausgeführten Versuche kann man nur einwenden [Macleod (366, S. 60)], dass es sich, was die optischen Erscheinungen betrifft, oft nur um ganz geringfügige Differenzen handelt, welche möglicherweise von beigemischten Spuren Eiweiss herrühren könnten.

Mansfeld und Geiger (377) haben ähnliche Versuche mit dem überlebenden Herzen diabetischer Katzen ausgeführt; wurde der Durchströmungsflüssigkeit Insulin zugesetzt, so verschwand zwar mehr Zucker als ohne das Hormon, aber Andeutungen einer Polymerisation konnten sie nicht finden: Hydrolyse mit Säure änderte, wenigstens nach ihren Feststellungen, das reduzierende Vermögen der durch das Herz geströmten Flüssigkeit nicht.

Betreffs einer etwaigen Wirkung von Extrakten anderer Organe mit innerer Sekretion ist noch folgendes bekannt: Forsyth (112, S. 195) sah nach Injektion bei hungernden Kaninchen von Präparaten aus

## 2. Thyreoidea,

## 3. Hypophyse und

4. Nebenniere nicht nur den freien Blutzucker, sondern auch die „Difference value“, d. h. die Reduktionssteigerung durch saure Hydrolyse des mit Phosphorwolframsäure enteieissten Blutes, ansteigen, und zwar am stärksten durch die beiden zuletztgenannten Agenzien. Die Ausscheidung mit dem Harn ging hier dem Gehalte des Blutes parallel. Wir werden hier aber Cambridge nicht folgen in seinen Auslegungen dieser Befunde, da sogar er hier merkwürdigerweise den Fehler macht, als Kohlenhydrate nur Glucose und Glykogen in Rechnung zu ziehen und die übrige Hy-S zu vernachlässigen.

Lépine c. s. (338) beobachteten nach Adrenalineinspritzung bisweilen eine Steigerung der Hy-S. Sogar ihre permanenten Gegner Bierry und Fandard (44, 453 S. 232) schlossen sich dieser Meinung an. Daneben sahen sie auch die bekannte Steigerung des freien Blutzuckers, und erst, was dann vom mobilisierten Zucker noch übrig blieb, erschien in dem Harn. Es verläuft aber nach ihnen die Steigerung der Hy-S viel langsamer als die des freien Zuckers — die Hy-S weise sogar oft im Anfang eine Senkung auf — so dass sie oft noch 7—8 Stunden nach der Einspritzung im Steigen begriffen ist, wenn der freie Zucker schon längst wieder bis zur Norm abgesunken ist. Es hängt also grösstenteils von der Dauer der Beobachtung ab, ob man die soeben (S. 218) schon ausführlich besprochene Senkung (erste Phase) oder die nachfolgende Steigerung (zweite Phase) betonen wird. Weiter verdient es Erwähnung, dass die Autoren, die hauptsächlich eine Steigerung der Hy-S beobachteten, kolossale Adrenalindosen angewandt haben: sie spritzten nicht weniger als 10—40 mg

pro Tier ein! (40). Deshalb brauchte es auch nicht wunderzunehmen, dass die Steigerung der Hy-S unter diesen Umständen so lange fort dauerte, dass sie sogar nie eine Rückkehr bis zur Norm innerhalb der Beobachtungszeit gesehen haben.

**5. Leberextrakte** bewirkten in den Versuchen Lépines (338) eine Steigerung der Hy-S.

**6. Sekretin** (subcutan injiziert) soll eine starke Zunahme der Hy-S, die im besondern dessen als „Difference value“ bezeichnete Fraktion betrifft, bewirken (Cammidge, 112 S. 197).

**7. Asphyktisches Blut**, intravasculär eingespritzt, bewirkte in Lépines Versuchen (338) gleichfalls eine Steigerung der Hy-S, vielleicht durch seinen Adrenalingehalt, vielleicht aber auch als Reaktion auf das Einbringen veränderter Eiweisse. Denn la Barre (16) beobachtete dasselbe beim anaphylaktischen Shock; beim Shock durch Peptoneinspritzung hingegen konnte Bordet (84) nichts Charakteristisches finden.

**8. Amylase**, parenteral verabreicht, sollte nach Lépine und Boulud (338) gleichfalls eine Steigerung der Hy-S zur Folge haben.

**9. Phytokinin**, d. h. ein von Condorelli (127) aus Gramineenblättern hergestelltes, mit Collips Glucokinin verwandtes Präparat, ein pflanzliches Surrogat für Insulin also, bewirke nach seinem Hersteller bei Diabetikern neben einer deutlichen Senkung des freien Zuckers meistens auch eine Steigerung der Hy-S in derselben Weise, wie er eine solche auch nach Insulineinspritzungen bei seinen Diabetikern beobachtet hat.

**10.** Durch **Chloroform** treten nach Lépine und Boulud (330) starke Änderungen des Hy-S-Gehalts auf, die aber keineswegs immer gleichgerichtet seien; einmal beobachte man Erhöhung, ein andermal aber Senkung. Überzeugend sind aber die von ihnen mitgeteilten Zahlen, die dies beweisen sollten, nur selten. Randoïn (453, S. 242) fand den mittleren Wert bei mit Chloroform plus Morphin narkotisierten Hunden gleich dem normaler Kontrolltiere (in jeder Gruppe nicht weniger als 19 Tiere). Pavy (433, S. 155) hatte schon früher angegeben, dass im allgemeinen Narkotica, und weiterhin auch

**11. Kohlenoxyd** eine Erhöhung bewirken sollten. Lépine und Boulud (342) bestätigten dies für das Kohlenoxyd, sei es auch mit der Einschränkung, dass der Steigerung eine anfängliche Senkung voranging.

**12. Antipyrin** habe Erhöhung der Hy-S zur Folge [Lépine c. s. (331)],

**13. Blei-** und

**14. Quecksilbersalze** ebenso (331).

**15. Säuren**, z. B. 5 ccm 0,2%ige Salzsäure, subcutan eingespritzt, sollen eine geringe Steigerung besonders der „Difference value“ bewirken [Cammidge (112, S. 197)]. Auch für

**16. Morphin,**

**17. Hyoscin,**

**18. Veratrin** hat man eine Hy-S-steigernde Wirkung angegeben [Lépine und Boulud (331)].

**19. Phloretin**, einem Kaninchen nach der Fütterung eingespritzt, bewirkte in den Versuchen von Cammidge c. s. (112) nach einiger Zeit eine beträchtliche Steigerung der Hy-S, die quantitativ der Senkung des anfänglich gleichfalls angestiegenen freien Blutzuckers annähernd gleichkam, so dass infolgedessen die Summe beider einen nahezu horizontalen Verlauf zeigte. Auch hier soll, ebenso wie beim sofort noch zu besprechenden Hydrazin, die Bildung eines nichtdialysablen, nicht in den Harn übergehenden Kohlenhydrates die Ursache der Erscheinungen sein. [Die Autoren glauben, dass das normalerweise im Blute vorkommende hydrolysierbare Kohlenhydrat ein Derivat des gewöhnlichen Reserveglykogens sei (112, S. 144).]

Auch die hierher gehörigen in-vitro-Versuche derselben Autoren sind interessant. Eine Kaninchenleber, mit Locke-Lösung durchströmt, gab eine gewisse, ziemlich grosse, Menge hydrolysierbares Kohlenhydrat ab; wurde der Durchströmungsflüssigkeit dann aber  $\frac{1}{2}\%$  Phloretin zugesetzt, so wurde die abgegebene Menge komplexes Kohlenhydrat auf nicht weniger als das Siebenfache gesteigert. Daneben nahm bei Anwesenheit von Phloretin der Glykogengehalt viel stärker ab als ohne diese Substanz, wohl ein Hinweis, dass zwischen beiden Kohlenhydraten wirklich ein Zusammenhang bestand (112, S. 145).

**20.** Wichtig ist auch ihr Befund (112, S. 148), dass demgegenüber die Niere, auch wenn sie isoliert ist, imstande scheint, **Phlorhizin** in seine Komponenten Phloretin und Glucose zu zerlegen.

Spritzt man Tieren Phlorhizin ein, so steigt nach Lépine und Boulud (331, 338) die Hy-S an. Waren ihre ersten Versuchsergebnisse noch ziemlich zweideutig (328), später wurden klarere Resultate erhalten (323, S. 398). Ist ihre Meinung tatsächlich richtig, so könnte dies erklären, wie es möglich ist, dass Hunde bei Phlorhizinvergiftung trotz eines sehr niedrigen Niveaus des freien Blutzuckers doch Glykosurie aufweisen können, vorausgesetzt, dass die Niere aus Phlorhizin und auch aus anderen komplexen Zuckerverbindungen [Eichholz u. a., vgl. S. 130, 191) Glucose abzuspalten vermag. Nach dieser Anschauungsweise werde der von der Niere aus dem Phlorhizin abgespaltene Zucker ausgeschieden und auf diese Weise komme die bekannte Phlorhizinglykosurie zustande; das in Freiheit gesetzte Phloretin bleibe im Körper, bewirke weiteren Abbau des Glykogens der Leber und binde sich aufs neue an die abgespaltenen einfachen Kohlenhydrate, um diese in der Niere wiederum abzugeben; auf diese Weise entstehe ein Kreislauf, bis die Glykogenvorräte des Körpers erschöpft seien.

**21.** Zum Schluss erwähnen wir noch die Versuche von Cammidge c. s. mit **Hydrazinsulfat** oder -phosphat. Wurden Kaninchen mässige Dosen dieses Lebergiftes wiederholt eingespritzt, und verabreichte man ihnen dann eine

Mahlzeit, so zeigte in den ersten 2 Stunden danach die „Difference value“ keine Änderung und blieb normal niedrig; in den nächsten Stunden trat aber eine steile Steigerung auf. Das heisst, dass während die normale Leber alles „Dextrin“, das bei der Resorption in die V. portae gelangt, nahezu vollständig festlegt, das vergiftete Organ es ungehindert passieren lässt, so dass es sogar in den Harn übergeht. Tödliche Vergiftung mit dieser Substanz verursachte auch bei hungernden Tieren oft kurz vor dem Tode eine Steigerung der „Difference value“ bis zu abnorm hohen Werten [Cambridge und Howard (111, 112 S. 127)].

Bei diesen Untersuchungen gelangten die genannten Forscher zum Schluss, dass mehrere Substanzen an der „Difference value“ beteiligt sein können; bei Pankreaserkrankungen sei das hydrolysierbare Kohlenhydrat dialysabel und gehe in den Harn über, bei Lebererkrankungen (Hydrazinvergiftung und anderes) hingegen sei es nichtdialysabel und werde nicht mit dem Harn ausgeschieden. Ihres Erachtens beruhen diese Unterschiede darauf, dass im ersten Falle reichlich amylolytisches Ferment im Blute anwesend ist, während dies im zweiten zum grössten Teil oder vollständig fehle, weil es ihres Erachtens hauptsächlich in der Leber gebildet werde.

## XXI. Physiologie und Pathologie des „gebundenen Zuckers“ der Gewebe.

Dieses Kapitel wird nur kurz sein: hinsichtlich der Physiologie ist kaum etwas bekannt; was die Pathologie betrifft reichen unsere Kenntnisse etwas weiter, und es scheint, dass hier Tatsachen von hervorragender Bedeutung festgestellt worden sind.

Von der normalen physiologischen Funktion der Gewebs-Hy-S sind wir nur hinsichtlich der des Muskels, des Lactacidogens, etwas näher unterrichtet; das haben wir im diesbezüglichen Kapitel schon erwähnt. Forschbach und Schaeffer (207) untersuchten Muskelhydrolysate, die also im Lichte unserer jetzigen Kenntnisse die Spaltprodukte des Lactacidogens enthalten haben müssen; neben freiem Muskelzucker und Glykogen wurde auch die Hy-S bestimmt. Das Ergebnis war, dass die gesamte Menge Kohlenhydrat normaler, in den normalen Kreislauf eingeschalteten Hundemuskeln bei Arbeit eine erhebliche Erniedrigung aufweist, die sowohl das Glykogen und den freien Muskelzucker als auch die Hy-S betrifft.

Wichtiger erscheinen die Befunde auf pathologischem Gebiet. Schon 1887 fand Freund die Tatsache (216, S. 33; 284, S. 2), dass Carcinomgewebe zwanzig- bis dreissigmal soviel Kohlenhydrat enthalte als normale Gewebe. Tatsächlich scheinen seine Zahlen dieses Ergebnis völlig zu rechtfertigen. Betrachtet man sie aber etwas näher, so bemerkt man, dass er z. B. für den normalen Kohlenhydratgehalt der Leber 0,3—1,0 pro mille findet.

Das sind aber so niedrige Zahlen im Vergleich zu den später von anderen und auch von uns selbst erhaltenen Werten, dass man sich fragen muss, was er eigentlich bestimmt hat, und wie er dies getan; sogar wenn die Zahlen den freien Zucker vorstellen, sind sie noch zu niedrig. Da aber seine Ergebnisse bei Carcinomgewebe regelmässig höher waren (ungeachtet ob dies aus Leber, Mamma, Muskel oder Lymphdrüsen stammte) als bei normalen Geweben, und er demgegenüber regelmässig eine starke Senkung des Eiweissgehalts der erkrankten Gewebe feststellen konnte, kann man seinen Befunden doch nicht ohne weiteres jede Bedeutung absprechen, um so mehr, als bei Sarkomen ein vollkommen entgegengesetztes Verhalten mit nahezu normalem Kohlenhydratgehalt und gesteigertem Peptongehalt gefunden wurde. Ausserdem sind später noch mehrere Stützen für die Auffassung Freunds gefunden worden (284, S. 5 usw.), und es ist dem Autor schliesslich sogar gelungen, zusammen mit Kaminer (216, S. 26; 284, S. 6) die in Frage stehende Substanz als stickstoffreies, kolloidales Kohlenhydrat zu isolieren.

Serum von Carcinomkranken soll mit Extrakten aus Carcinomgewebe eine Trübung geben, die sich nachher am Boden des Gefässes ansammelt (216, S. 25); dieser Niederschlag sei nach dem Ergebnis der Reaktionen von Molisch und von Fehling stark kohlenhydrathaltig. Ohne sich Rechenschaft zu geben, ob dies genügende Beweise seien, schliessen daraus Freund und Kaminer (216, S. 32), dass also offenbar, da die Tumorzellen ihre spezifischen Nahrungssubstanzen in so spezifischer Weise binden, ihr Wachstum auch von Zufuhr bzw. Fehlen dieser Substanzen abhängig sein muss. Das ist, obwohl auf wenig zuverlässiger Grundlage ausgesprochen, eine äusserst wichtige Annahme, weil sie die Möglichkeit in sich schliesst durch künstliche Erniedrigung des Gehalts an den Tumor ernährenden Kohlenhydraten im Blute die Geschwindigkeit des Tumorwachstums, und damit vielleicht auch den Widerstand des auf diese Weise in seinem Ernährungszustande geschädigten Tumors gegenüber den Abwehrkräften des Körpers zu schwächen.

Neben obenstehenden Befunden konnten Freund c. s. (216, S. 34) noch feststellen, dass die Carcinomzellen ausser für das abnorme Kohlenhydrat auch noch eine besondere Avidität zeigten für Lecithin; mit anderen Worten, man stösst auch hier wieder auf die Kombination von Lipinen mit Kohlenhydraten, denen wir in den vorangehenden Seiten schon so oft, als „Jecorin“, als Galaktolipin und anderen noch unbekanntem ähnlichen Substanzen, begegnet sind.

Freund c. s. (216, S. 61) sprechen als ihre Meinung aus, dass das Nucleoglobulin der Krebszellen und des carcinomatösen Blutserums das in Frage stehende Kohlenhydrat binde mittels der von ihnen erkannten pathologischen zweibasischen ungesättigten Fettsäure aus dem Darms (Molekulargewicht 300, ätherlöslich), das dann also einen Bestandteil dieser spezifischen Nucleoglobuline bilde. Da aber diese Säure nach ihren eigenen Angaben ohne weiteres

sich mit Äther extrahieren lässt, kann ihre Bedeutung als chemisches Bindeglied nicht von grosser Bedeutung sein, und sie ist offenbar kein Bestandteil des Lipins.

Beim Diabetes fand Krawkow (297) im Knorpel viel mehr freies und gebundenes Kohlenhydrat als bei gesunden Individuen. Im Lichte der späteren Untersuchungen ist davon ohne Zweifel ein grosser Teil Chondrosamin und Glykuronsäure gewesen.

## XXII. Experimentelle Beeinflussung des „gebundenen Zucker“-Gehalts der Gewebe.

Auch auf diesem Gebiete ist die Ernte dürftig. Um Wiederholungen zu vermeiden, sei auch verwiesen auf das im Kapitel Lactacidogen Gesagte.

Bei zwei pankreasdiabetischen Hunden beobachteten Forschbach und Schäffer (207) in den Muskeln bei Arbeit eine Abnahme des dann noch vorhandenen Glykogenrestes; im Gegensatz zum soeben erwähnten Verhalten bei normalen Tieren aber wiesen hier sowohl der freie Muskelzucker als im besondern auch die Muskel-Hy-S eine Steigerung auf, so dass die Summe aller Kohlenhydrate nahezu unverändert blieb.

Bei einem künstlich abgekühlten Hunde fanden Bierry und Grzewska (49) in den Muskeln sofort nach dem Verbluten neben viel Glykogen nur Spuren eines anderen „gebundenen Zuckers“. In der Muskulatur eines seit 3 Tagen toten Pferdes betrug die Summe von freiem und „gebundenem“ Zucker ausser dem Glykogen nicht weniger als 8,0 pro mille; ihres Erachtens aber sei in solchen alten Organen oft Glykuronsäurebildung die Ursache dieses Befunds.

Die pharmakologischen Untersuchungen auf diesem Gebiet betreffen fast alle das Insulin.

Sehr deutlich waren die Ergebnisse in den Versuchen von Condorelli (137), bei denen dieser Autor seine an andern Orten (s. S. 58) schon zitierte Methode zur Gewebszuckerbestimmung verwendete. Als Versuchstiere dienten 6 Kaninchen von 780—1200 g Körpergewicht, die zuvor 12—24 Stunden gehungert hatten. Es wurden Blut- und Muskelzucker bestimmt, erstens unmittelbar vor dem Versuch und zum zweiten Male, wenn Krämpfe bzw. Überreizbarkeit die eingetretene Hypoglykämie verrieten. Es stellte sich heraus, dass in allen Fällen der freie Muskelzucker, ebenso wie der freie Blutzucker, eine deutliche Senkung aufwies, und zwar ersterer am stärksten. Aber viel wichtiger für die uns hier beschäftigende Frage sind die für den gebundenen Blut- und Gewebszucker festgestellten Werte, die wir umstehend tabellarisch wiedergeben wollen.

Dies sind wohl die überzeugendsten Daten, die über diesen Gegenstand veröffentlicht sind. Aus eigener Erfahrung wissen wir aber, dass die in diesem

Kaninchen Nr.	Gewicht	Insulin- dosis Einheiten	Hy-S im Muskel		Hy-S im Blute	
			vorher	nachher	vorher	nachher
			pro mille		pro mille	
1	1030	10?	0,57	1,05	0,22	0,29
2	1120	20	0,83	1,15	0,13	0,56
3	1200	20	1,05	1,67	0,20	0,70
4	1125	5	1,14	1,28	0,00	0,16
5	1025	$\frac{1}{4}$	0,96	1,10	0,25	0,29
6	780	$\frac{1}{2}$	0,50	0,70	0,20	0,46

Falle von Condorelli zur Entfernung des Eiweisses benutzte Wolframatmethode nichtkohlenhydratartige Hydrolysenprodukte sehr schlecht entfernt; als Beweis für die Zunahme der hydrolysierbaren Kohlenhydrate unter Insulineinfluss kann dies also kaum gelten. Aber die Tatsache, dass man mit Hilfe einer bestimmten Methode regelmässig Differenzen nach ein und derselben Richtung findet, ist wichtig genug. Auch Piazza [zit. nach Condorelli (139)] war zum gleichen Ergebnis gelangt.

Cori hat in einer Reihe von sehr wichtigen Untersuchungen neben dem Leberglykogen (nach Pflüger) auch das Gesamtkohlenhydrat in der Leber bestimmt. In seiner ersten Untersuchung (146) beobachtete er in der ersten Stunde der Insulinwirkung keine nennenswerte Änderung der genannten Werte, welches auch der Anfangsglykogengehalt oder der Grad der Blutzuckersenkung war. Später (145) hat er diese Versuche weiter fortgesetzt und, nachdem er sich durch Kontrollversuche davon überzeugt hatte, dass seine Hydrolyse-methode gut war, hat er diese sogar sonderbarerweise und vollkommen zu Unrecht als Glykogenbestimmungsmethode aufgefasst, und zwar auf Grund folgender Annahme: wenn der Glykogengehalt nicht unter 30,0 pro mille ist und man für die Glykogenbestimmung nach Pflüger nicht weniger als 10 g Leber verwendet, seien die Werte der direkten Hydrolysemethode höchstens 5—10% höher als die nach Pflüger bestimmten. Hierin liegt, wie wir weiter unten an unseren eigenen Versuchen zeigen werden, ein Kern von Wahrheit, aber korrekt ist es sicher nicht, beide Methoden als gleichwertig zu betrachten. Richtig ist seine Angabe, dass bei niedrigerem Glykogengehalt die Differenzen zwischen den Ergebnissen der beiden Methoden prozentual grösser werden: das stimmt zu unseren eigenen Erfahrungen. Es stellte sich nun in Coris Versuchen heraus, dass bei Insulinmäusen die Differenzen zwischen den von den beiden Methoden gelieferten Zahlen im Mittel 5% grösser waren als bei normalen Tieren; daraus schliesst er, dass offenbar die Insulintiere in ihrer Leber mehr komplexe Kohlenhydrate enthielten als die normalen Kontrollen. Hatten aber die Tiere Krämpfe gezeigt, so war (bei 10 Tieren) der mittlere Gesamthydrolysenwert, Glykogen miteinbegriffen, 37% niedriger als bei den Kontrollen.

Hier mögen auch einige ähnliche Versuche eingereiht werden, die Laqueur und ich selbst angestellt haben (236a). Zur Untersuchung dienten gesunde Kaninchen von mehr als 2 kg Körpergewicht, denen ein abschraubbares Bauchfenster nach der Corischen Technik (148) in der Bauchwand eingenaht worden war. Im Anschluss an die Operation hungerten sie 4 Tage, um das störende Glykogen auf ein Minimum zu erniedrigen, und wurden dann zum Versuch benutzt, aber nur wenn sie in einem guten klinischen Zustande waren. Am Versuchstage wurde den Tieren einigemal vor und nach den Einspritzungen ohne Narkose ein Stück Leber entnommen, und darin Hy-S, Glykogen und freier Leberzucker bestimmt; jede Bestimmung wurde wenigstens in duplo, öfters in triplo vorgenommen. Die Hy-S-Bestimmung geschah nach unserer eigenen, später mitzuteilenden Methode, die Glykogenbestimmung nach Pflüger in der Modifikation von Goldfederova [s. Laufberger (316)]. Der freie Gewebszucker wurde folgendermassen bestimmt: die herausgeschnittenen Leberstückchen brachte man sofort in ein tariertes Gefäss mit eiskaltem Alkohol, bestimmte schnell das Gewicht, kochte kurz auf, ersetzte den Alkohol noch einigemal durch neuen, nachdem das morsch gewordene Gewebe sorgfältig mit einem Glasstab weiter zerkleinert war, brachte dann das Ganze auf ein bestimmtes Volumen und bestimmte darin das Reduktionsvermögen nach Hagedorn-Jensen in der Dresel-Rothmannschen Modifikation. Das Ergebnis sowohl der Insulinversuche als der Kontrollen fassen wir in untenstehender Tabelle zusammen:

4 Tage hungernde Kaninchen mit abschraubbarem Bauchfenster.

Nr.	Eingespritzt mit	Leberglykogen pro mille			Leber-Hy-S pro mille		
		Vor	2 Std. nach	4 Std. nach	Vor	2 Std. nach	4 Std. nach
44	2,3 ccm HCl-n/100 subcutan	0,2	0,4	0,2	5,5	8,8	5,4
45	2,5 „ „ intravenös	0,4	0,6	0,6	8,7	7,4	7,2
46	1,8/10 Einheit Insulin intravenös	2,2	0,9	—	20,0	6,7	—
47	2,1/10 „ „ „	1,6	0,5	—	11,6	5,9	—
48	2,15/10 „ „ „	1,2	0,6	0,1	8,2	9,3	22,2
49	2,37/10 „ „ „	0,7	0,7	0,1	19,6	15,7	8,1
50	2,60/10 „ „ „	11,2	11,7	1,5	0,9	0,0	3,5
51	3 „ „ „	1,4	3,2	0,9	6,1	4,3	2,1
54	3 „ „ „	0,8	0,6	0,3	11,0	17,3	4,9
58	9 „ „ „	1,9	3,8	3,2	9,4	13,5	9,8
59	9 „ „ „	6,3	5,0	3,8	11,4	9,3	6,8
60	Nichts . . . . .	1,5	3,2	1,1	5,6	10,9	0,8
61	„ . . . . .	1,8	1,2	1,0	7,4	9,3	10,9
62	„ . . . . .	0,4	0,5	0,4	7,2	6,6	8,3
63	„ . . . . .	2,0	2,0	1,1	7,8	9,6	10,4
64	„ . . . . .	5,4	2,0	1,2	0,7	2,5	2,4

1 Einheit Insulin = 1/3 Krampfosis ≅ 1/3 neue internationale Einheit.

Man sieht: auch hier war keine deutliche Wirkung des Insulins in einer bestimmten Richtung zu erkennen. Dennoch traten bei näherer Betrachtung

der Zahlen wertvolle Tatsachen ans Licht. Erstens zeigt der Spalt der Anfangsglykogenwerte, dass von den 16 Tieren, die 4 Tage gehungert hatten, 13 einen Leberglykogengehalt aufwiesen, der meistens weit unterhalb 2,20 pro mille lag; nur bei den übrigen drei Kaninchen war er auffallend hoch und betrug 11,2, 6,3 bzw. 5,4 pro mille.

Betrachten wir jetzt den Spalt der Anfangs-Hy-S-Werte, so sehen wir, dass von den 16 Tieren 14 Zahlen über 5,5 pro mille aufweisen, während zwei Kaninchen die auffallend niedrigen Zahlen von 0,9 bzw. 0,7 pro mille zeigen.

Nun ist das sehr Merkwürdige, dass diese beiden letzten Tiere dieselben sind, die durch ihren unter diesen Umständen abnorm hohen Glykogengehalt auffielen; nur Nr. 59 besitzt sowohl einen hohen Glykogen- als einen ziemlich hohen Hy-S-Gehalt.

Aus diesen Beobachtungen, die uns trotz ihrer geringen Zahl durch ihre erheblichen quantitativen Ausschläge doch wohl wichtig scheinen, glauben wir mit Vorsicht den Schluss ziehen zu dürfen, dass eine gewisse Beziehung, und sogar eine gewisse Reziprozität, besteht zwischen Leberglykogen einerseits und Leber-Hy-S andererseits, wie schlecht letztere im chemischen Sinne auch definiert sein möge (vgl. auch Bissinger und Lesser S. 65).

In 13 von den 16 Fällen fanden wir also bei unseren 4 Tage hungernden, operierten Tieren einen hohen Hy-S-Wert neben einem niedrigen Glykogengehalt: offenbar ist dies also das „physiologische“ Verhalten unter diesen Umständen.

Dass es sich hier nicht handelt um ein zufälliges Abbauprodukt der Lebergewebe, sondern tatsächlich um eine Substanz, die lebhaft am Stoffwechsel beteiligt ist, geht mit am deutlichsten hervor aus den Zahlen, die in bestimmten Intervallen am selben Individuum gewonnen sind. So beobachteten wir in den wenigen Stunden, die der Versuch dauerte, eine sehr beträchtliche Steigerung bei den Nummern 54, 58 und 60; bei den Nummern 46, 47, 48, 49 hingegen eine sehr starke Senkung. Bei den Nummern 54 und 60 sieht man sogar innerhalb kurzer Zeit grosse Ausschläge in entgegengesetzter Richtung beim selben Individuum zustande kommen. Es unterliegt also keinem Zweifel, dass wir es hier mit einem äusserst wichtigen Stoffwechselprodukt (oder einer Gruppe von Produkten) zu tun haben.

Das wird noch deutlicher, wenn man sich auch die quantitativen Verhältnisse dem Glykogen gegenüber vor Augen hält. Oft ist bei diesen 4 Tage hungernden Kaninchen der Hy-S-Gehalt, als Glucose berechnet, etwa zwanzig mal höher als der Glykogengehalt, einmal sogar 26 mal (Nr. 44, 45, 46, 62).

Dann und wann beobachtet man beim selben Individuum eine gleichzeitige Steigerung sowohl der Hy-S als des Glykogens (Nr. 44, 58, 60), was vielleicht darauf hindeutet, dass nicht einfach diese beiden ineinander über-

gehen, sondern dass beide noch aus einer Reserve irgendwo anders im Körper schöpfen.

Nochmals betonen wir, dass bei diesen unseres Erachtens wichtigen Feststellungen von zufälligen Analysen- und Rechenfehlern keine Rede sein kann, erstens weil alle Bestimmungen wenigstens in duplo geschahen, und zweitens, weil mehrere geübte Mitarbeiter schon lange bevor die Analysen fertig waren, aus ihrem Aussehen das merkwürdige Verhalten vorhersagen konnten, was sich dann später bestätigte.

Winter (536) fand im Presssaft mit Äther entfetteter Lebern und Muskeln von Kaninchen keinen Unterschied zwischen den Hy-S-Werten normaler und insulinbehandelter Tiere.

In den Versuchen Macleods (162; 366 S. 318; 368) war bei Insulintieren das reduzierende Vermögen von Extrakten von Leber und Muskel, hergestellt mit heissem verdünnten Alkohol, sowohl vor wie nach saurer Hydrolyse deutlich niedriger als bei den normalen Kontrollen. Mit kaltem Alkohol bereitete Auszüge hingegen wiesen bei Hydrolyse eine Reduktionszunahme auf, die bei Insulintieren bisweilen sehr beträchtlich war. Wurde das Insulin gleichzeitig mit Glucose eingespritzt, so war im Extrakt der Muskeln, mit kaltem Alkohol hergestellt, schon vor der Hydrolyse das Reduktionsvermögen erhöht gegenüber den Kontrollen; wurde es dann noch hydrolysiert, so trat (wenigstens in einem Falle) dazu noch eine ausserordentlich starke Steigerung der Reduktionskraft ein. Dennoch waren bei all diesen Versuchen die Ergebnisse zu wechselnd, um feste Schlüsse ziehen zu können.

In einer späteren Untersuchung haben Simpson und Macleod (492) keine Extrakte, sondern die Lebern selbst hydrolysiert. Diese Organe stammten von weissen Standardratten, wie sie jetzt in Amerika und England vielfach zu solchen Versuchen benutzt werden. Die Autoren konnten feststellen, dass bei den Insulintieren der nach Hydrolyse festgestellte Gesamtzuckerwert sich nicht geändert hatte, ebensowenig wie die nach Pflüger bestimmten Glykogenwerte; der freie Leberzucker aber wies doch eine beträchtliche Senkung auf. Es ist also kein anderer Schluss möglich als der, dass auch hier die übrige Hy-S der Leber zugenommen hat.

Für weitere diesbezügliche Untersuchungen möge auf das S. 136 usw. (Kapitel „Lactacidogen“) Gesagte verwiesen werden.

Nach Verabreichung von Thyreoidea per os sah Fukui (217) konstant den Gesamtkohlenhydratgehalt der Leber (bestimmt durch Hydrolyse mit HCl und Enteiweissung mittels Mercuriacetat) absinken, während der der Muskeln unverändert blieb; darauf wollte er sogar eine Wertbestimmungsmethode für Thyreoideapräparate aufbauen!

Hypophysenpräparate hingegen, sowohl aus dem Vorder- als aus dem Hinterlappen hergestellt, hatten in Fukuis Versuchen, wenn sie normal ernährten Ratten eingespritzt wurden, in der genannten Richtung keinerlei

Auswirkung; auch beeinflussten sie die Wirkung gleichzeitig verabreichter Thyreoideapräparate keineswegs.

Hungernde Phlorhizintiere (fünf Kaninchen, zwei Katzen) zeigten in Coris Versuchen (145) unter Einfluss des Insulins, auch wenn keine Glucose verabreicht war, immer eine starke Zunahme des Gesamtkohlenhydrats der Leber. Da aber das Glykogen in diesen Fällen nicht gesondert bestimmt wurde, besteht immer noch die Möglichkeit, dass dies vielleicht teilweise auf erneuerter Glykogenbildung unter Einfluss des Hormons beruhte.

## Anhang.

### A. Restkohlenstoff.

Wenn man Blut enteiwesst, z. B. mit Phosphorwolframsäure, und ausserdem die Kohlensäure daraus entfernt, erhält man ein Filtrat, worin man den Kohlenstoffgehalt, den sog. Restkohlenstoff, bestimmen kann. Daneben kann man im selben Filtrate auch mit einer der üblichen Reduktionsmethoden den Zuckergehalt bestimmen, und die in diesem Zucker vorhandene C-Menge berechnen.

Aus der Methodik ergibt sich, dass der uns beschäftigende „gebundene“ „Zucker“, zusammen mit dem „freien“, wenigstens zum Teil den Kohlenstoff für diesen Rest-C liefert (besonders die an Cammidges „Difference value“ beteiligten Substanzen!); es ist also ein noch etwas weniger scharf umgrenzter Sammelbegriff als unsere Hy-S, welche dann wenigstens noch der Einschränkung genügen muss, dass sie bei saurer Hydrolyse eine Zunahme ihres reduzierenden Vermögens aufweisen muss.

Doch wollen wir diesem Gegenstand einige wenige Worte widmen, und zwar deshalb, weil einige der gefundenen Tatsachen in auffallendem Einklang stehen mit den an der Hy-S festgestellten Befunden und deshalb eine äusserst willkommene Bestätigung hierzu bilden.

So findet man z. B. bei Stepp (506, 508) folgende, teilweise den Arbeiten anderer Autoren entnommenen Angaben: Der Rest-C-Gehalt sei erhöht bei akuten fieberhaften Krankheiten, wie Maltafieber und Pneumonie (wo aber nur der erhöhte freie Blutzucker seines Erachtens die Ursache sei), weiter bei Lebercirrhose, Eklampsie und Urämie, und allen untersuchten Fällen von Carcinom. Eine Senkung unterhalb des normalen Niveaus hingegen wurde beim Diabetes beobachtet. Der Sinn dieser Änderungen stimmt also in vielen Fällen mit dem der schon für die Hy-S festgestellten völlig überein.

Die mittleren Normalwerte des Rest-C hat seinerzeit schon Mancini (373, 374) festgestellt; sie seien für jede Tierart nahezu konstant und betragen: beim Kaninchen 0,844 pro mille, beim Rinde 0,832 pro mille, beim Hunde 0,780 pro mille, beim Menschen 0,765 pro mille, beim Pferde 0,756 pro mille.

Beim Aufbewahren in der Kälte ändere sich der Gehalt in den ersten 24 Stunden nicht bemerkbar.

Experimentell konnte der Rest-C-Gehalt erhöht werden durch beträchtliche Blutverluste, durch Unterbindung der Ureteren, durch Pankreasexstirpation, in geringerem Grade auch durch Phosphorvergiftung, und bisweilen durch Adrenalin. Man sieht: auch hier tritt wiederum der Parallelismus zur Hy-S zutage!

Stepp (506, 508) gibt viel höhere Normalwerte für den Menschen an als Mancini, und zwar (1,60 —) 1,80 (— 2,00) pro mille.

Davon komme auf Rechnung von:

Freiem Blutzucker (1,00 pro mille) . . . . .	0,40 pro mille
Harnstoff (0,28 pro mille) . . . . .	0,56 „ „
Milchsäure (0,10 pro mille) . . . . .	0,04 „ „
Kreatin (0,065 pro mille) . . . . .	0,02 „ „
Aminosäuren (schätzungsweise) . . . . .	0,25 „ „

Alle bekannten Substanzen zusammen also 0,75 pro mille,  
d. h. nur ein Drittel vom Total ad 1,80 pro mille!

Welche Substanzen kommen nun vielleicht daneben noch in Betracht? Stepp nennt die Möglichkeit, dass Oxyproteinsäure (d. h. Chondroitinschwefelsäure) beim Menschen eine ebenso wichtige Rolle spiele wie beim Pferde; weiter vermutete er Ameisensäure in geringen und Glykuronsäure in grösseren Mengen. Aber ausser all diesen bekannten Substanzen müssen auch noch andere unbekanntes in grossen Mengen zugegen sein. Darauf weisen verschiedene Beobachtungen hin. So fand Stepp (l. c.) dann und wann bei Diabetikern den Zuckerkohlenstoffgehalt höher als den Gesamtkohlenstoffgehalt: dann muss die Reduktionsmethode entweder durch die Anwesenheit von Substanzen mit stärkerem Reduktionsvermögen, oder von solchen mit niedrigerem Kohlenstoffgehalt als Glucose, zu hohe Werte geliefert haben. Dies ist gleichzeitig nochmals eine Warnung, nicht immer ohne weiteres die mittels Reduktionsmethoden erhaltenen Werte als „Zucker“ zu berechnen. Stepp glaubt, dass unter anderem aldehydartige Substanzen hier die Schuldigen seien.

Für eine abnorm starke Steigerung des Rest-C kämen seines Erachtens folgende relativ kohlenstoffreiche Substanzen in Betracht: die Ketonstoffe (Aceton, Diacetsäure,  $\beta$ -Oxybuttersäure) und „Oxyproteinsäure“.

Hier darf man auch die Substanz erwähnen, die von Winter und Smith (540) angetroffen wurde im Blute von Kaninchen, die nach Insulin maximale Blutzuckersenkung und Krämpfe gezeigt hatten: obwohl der Blutzucker bei Bestimmung nach Wood-Ost auf Null abgesunken war, enthielt das Blut, wie die sehr stark positive  $\alpha$ -Naphtholprobe (Molisch) zeigte, noch grosse Mengen eines optisch rechtsdrehenden Kohlenhydrates. Es gelang ihnen nicht, durch saure Hydrolyse daraus eine kupferreduzierende Substanz zu erhalten. Letzteres ist aber unseres Erachtens noch kein absoluter Beweis,

dass dies tatsächlich unmöglich ist; möglicherweise ist die Substanz durch unvorsichtige Hydrolyse zerstört worden, wie wir auch bei der Glykuronsäure erwähnten. Wurde die Substanz bis zur Trockne eingengt, so wurde oft die Molisch-Reaktion schwächer; durch Hydrolyse mit Säure kehrte sie dann wieder zurück: offenbar hatte es sich also um eine Polymerisation gehandelt. Dieselbe oder eine ähnliche Substanz haben Winter und Smith auch aus Lebern und Muskeln von Insulinkaninchen isolieren können. Dies wäre dann ihres Erachtens vielleicht das unbekannte Kohlenhydrat, in das Insulin den normalen Blutzucker umsetzt (Juni 1923!).

## B. Gesamtkohlenstoff.

Mit ähnlichen Substanzen, wie sie beim Restkohlenstoff in Betracht kommen, hat sich auch Gigon (227, 228, 229) bei seinen Untersuchungen betreffs des Gesamtkohlenstoffs beschäftigt. Die dabei zur Verwendung kommende Technik ist gröber als bei der Bestimmung des Rest-C, indem man darauf verzichtet, das Eiweiss zu entfernen; übrigens ist die Technik der der vorigen Versuche nahe verwandt, und man kann die Ergebnisse zurückführen auf dieselben Substanzen, vermehrt um die Eiweissarten und um die sonst beim Enteiweissen mitgeschleppten Fetten. Deshalb sind auch die hier erhaltenen Werte sehr viel höher: nach Kurokawa (301) schwankte bei 15 normalen Kaninchen der Gesamt-C-Gehalt zwischen 7,16 und 11,35%.

Die uns hier interessierenden Befunde Gigons waren folgende: nach Glucoseverabreichung nimmt der Gesamt-C des Blutes viel stärker zu als aus der Steigerung des freien Blutzuckers allein erklärlich; nach Insulinspritzung hingegen nahm der Gesamt-C viel stärker ab als mit der Blutzuckersenkung übereinstimmen würde, und zwar nicht nur im Blute, sondern auch in den Muskeln; in der Leber aber steigt er stark an, viel stärker als aus der Glykogenzunahme erklärlich. Die in Rede stehende Substanz soll weder reduzieren noch eine polarimetrische Drehung bewirken; nach Gigons Meinung ist es wahrscheinlich ein polymeres Zuckeranhydrid. Die Ausschläge des Gesamt-C sind in quantitativer Hinsicht viel grösser als die des Blutzuckers. Es würde uns aber zu weit führen, wenn wir auf diese Fragen näher eingingen.

## C. Dysoxydative Carbonurie.

Substanzen von ähnlichem Charakter werden auch bisweilen mit dem Harn ausgeschieden in Mengen, die die normalen übersteigen. Man hat als Ursache hiervon eine fehlerhafte Oxydation vermutet; da man der Abweichung mittels Kohlenstoffbestimmungen auf die Spur kommt, hat man ihr den Namen dysoxydative Carbonurie gegeben.

Es handelt sich also hier um unvollständig oxydierte, nicht reduzierende, N-freie Kohlenstoffverbindungen. Besonders Bickel hat sich mit seinen Mitarbeitern (30, 31, 32, 33, 34, 35, 286) mit diesem Probleme beschäftigt. Einer

von den pathologischen Zuständen, bei denen dysoxydative Carbonurie vorkommt, ist die experimentelle Avitaminose; weiter sei der „dysoxydable Harnkohlenstoff“ (Spiro) immer erhöht beim Diabetes, bei Tuberkulose und bei Carcinom, weiter bisweilen bei Anämie und verschiedenen toxischen und infektiösen Zuständen (286); wiederum also etwa dieselbe Reihe als bei der Hy-S. In den beiden zuerst genannten Zuständen erniedrigt Insulin diese Menge wiederum bis zur Norm, unter der Voraussetzung, dass die Nahrung eine genügende Menge von Salzen enthält; gleichzeitig steigt, wie aus dem Gaswechsel ersichtlich, auch die Kohlenstoffoxydation wiederum an. Calcium und Phosphat sollen die notwendigen Ionen sein. Die Senkung der mit dem Harn ausgeschiedenen Milchsäure sei ihres Erachtens längst nicht ausreichend zur Erklärung der genannten Senkung des dysoxydablen Harnkohlenstoffs.

Bei normalen Kaninchen aber hat nach Wada (530) Insulin keinerlei Einfluss auf den Gehalt des Harns an dysoxydablen Kohlenstoff. Daraus könnte man vielleicht schliessen, dass bei normalen und pathologischen Zuständen die in Frage kommenden Substanzen nicht identisch seien.

Es ist bekannt [Bickel (30)], dass bei Avitaminose Insulin in der alsdann sehr glykogenarmen Leber wiederum eine Anhäufung von Glykogen bewirkt. Dies verstärkt noch die Vermutung, dass die dysoxydative Carbonurie in engem Zusammenhang steht gerade mit dem Kohlenhydratstoffwechsel. Angesichts der verschiedenen Parallelen, die man im Obenstehenden entdecken kann beim Vergleich mit dem auf den vorigen Seiten beschriebenen Verhalten der Hy-S unter verschiedenen Umständen, darf man vielleicht sogar noch weiter gehen und an die Möglichkeit denken, dass die bei der dysoxydativen Carbonurie mit dem Harn ausgeschiedenen Substanzen mit der pathologisch gesteigerten Hy-S des Blutes nahe verwandt seien.

Anhangsweise zu den oben erwähnten Befunden bei Insulinvergiftung seien noch Fornets (204, 205, 206) Behauptungen erwähnt, nach denen alsbald nach Anfang einer mit regelmässigen Zwischenräumen sich wiederholenden Verabreichung von Insulin per os oder subcutan im Harn eine linksdrehende Substanz auftrete, während nach Unterbrechung der Verabreichung sonderbarerweise eine vorübergehende Glykosurie sich zeige. Überzeugend erscheinen seine Mitteilungen kaum, solange sie nicht von anderer Seite bestätigt werden.

## Zusammenfassung.

Enteiweisstes Blut ist bekanntlich imstande alkalische Cuprisalzlösungen beim Erhitzen zu reduzieren. Hydrolysiert man aber das Blut vor der Entfernung der Eiweisssubstanzen mit verdünnter Mineralsäure, so ist das nachher gefundene reduzierende Vermögen im allgemeinen grösser. Diese fundamentale

Tatsache wollen wir zu allererst gegenüber den vielen Skeptikern, die sich nicht selbst experimentell an der Sache beteiligten, mit auf Grund unserer eigenen Versuche nachdrücklich feststellen. Man nimmt nun an, dass diese Zunahme darauf beruhe, dass eine zuvor blockierte reduzierende Gruppe bei der Hydrolyse frei werde.

Das Reduktionsvermögen des nichthydrolysierten Blutes ist zum weit-aus grössten Teile auf Rechnung einer Zuckerart zu schreiben, die mit der gewöhnlichen Glucose identisch oder wenigstens ihr nahe verwandt ist; was hier noch an der vollständigen Beweisführung fehlt, haben wir in den vorigen Seiten auseinandergesetzt. Dies ist also der gewöhnliche Blutzucker, den jedermann kennt.

Die Zunahme des Reduktionsvermögens bei saurer Hydrolyse des Blutes hat man nun, wie gesagt, durch Abspaltung einer reduzierenden Substanz aus ihrer nichtreduzierenden Verbindung zu erklären gesucht; die abgespaltene Substanz hat man ohne viel Beweise gleichfalls als Glucose gedeutet. Wir haben gezeigt, wie unvollständig diese Identifizierung bisher war, und deshalb vorgeschlagen, statt des bisher üblichen Namens „Gebundenen Zucker“ einfach von „Hydrolysierbarer Substanz“ (abgekürzt Hy-S) zu reden, damit nichts präjudiziert werde, das nicht exakt bewiesen ist. Denn mag es auch am wahrscheinlichsten sein, dass tatsächlich Hexosen die Hauptrolle spielen, es ist keineswegs ausgeschlossen, dass daneben z. B. auch Triosen vorkommen, und ausserdem ist noch mit allerhand anderen, Aldehydgruppen u. dgl. enthaltenden Substanzen zu rechnen.

Woran sind nun diese Stoffe in ihrer gebundenen Form gekuppelt? Hier laufen die Meinungen noch viel weiter auseinander, und wir haben uns bemüht, darüber auf den vorangehenden Seiten eine möglichst vollständige Übersicht zu geben, ohne aber zu einem befriedigenden Schluss gelangen zu können. In Frage kommen: Polymerisation mit anderen Kohlenhydratmolekülen (Glykogen, Dextrine), Bindung an Eiweiss und dessen Derivate (daher der von einigen Autoren verwendete Namen Eiweisszucker), an Fette und ihre Abkömmlinge, an Phosphate (Lactacidogen usw.), an Lipine („Jecorin“, Galaktolipine). Mehrere von diesen Bindungsarten hat man schon geglaubt im Blute nachweisen zu können, aber von keiner von ihnen ist bisher der unzweideutige Beweis erbracht worden, dass ihr die Hauptrolle zukommt. Und dabei ist man immer von der Voraussetzung ausgegangen, dass es sich um Hexoseverbindungen handelt. Daneben muss man aber immer auch das Vorkommen von anderen Zuckern, z. B. von Pentosen, wie sie unter anderem in den verschiedenen Nucleoproteid- und Nucleotidmolekülen vorkommen, weiter auch von komplexen Glykuronsäure- und Aminozuckerderivaten berücksichtigen, um so mehr als über die quantitativen Verhältnisse nicht das Geringste bekannt ist. Auch das haben wir ausführlich diskutiert. Dabei haben wir auf eine auffallende Tatsache mehrmals hingewiesen, und zwar die, dass wir

reduzierender Substanz und höheren Fettsäuren so oft nebeneinander begegnen. Liegt hier ein Übergangsbereich zwischen Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel vor? Über Vermutungen kommt man aber vorläufig noch nicht hinaus, und das Problem der chemischen Natur des „gebundenen Zuckers“ wird noch viel Arbeit fordern, ehe man eine einigermaßen befriedigende Einsicht hat.

Einige Autoren haben dem „gebundenen Zucker“ jede Bedeutung abgesprochen und ihn als ein willkürliches Hydrolysenprodukt angesehen, nur gekennzeichnet durch seine reduzierenden Eigenschaften, sonst aber ohne charakteristische Natur, und sowohl qualitativ als quantitativ von den Einzelheiten der Hydrolysetechnik abhängig. Das ist, wie wir im Vorangehenden demonstriert haben, in seiner Allgemeinheit zweifellos unrichtig. Im jetzigen Stadium unserer Kenntnisse, wo wir noch so wenig über die exakte chemische Natur des „gebundenen Zuckers“ wissen, muss man vorläufig jede Methode als brauchbar betrachten, die keine offensichtlichen irrationellen Fehler enthält und unter bestimmten Umständen konstante, reproduzierbare Ergebnisse liefert; dies mit Hinsicht auf den müssigen Streit, der jetzt hinsichtlich der erlaubten Technik zwischen den italienischen Autoren einerseits und den französischen andererseits geführt wird. Vorläufig kommt es gar nicht darauf an, ob man während 10 oder 40 Minuten hydrolysiert, ob man mit Uran oder mit Quecksilber enteiweist; solange nur der betreffende Autor konsequent sowohl seine Experimente als seine Kontrollversuche mit ein und derselben Technik ausführt, sind alle so erhaltenen reproduzierbaren Ergebnisse willkommen. Nur bleibt dann die Frage offen, inwieweit die so mit verschiedenen Methoden erhaltenen Ergebnisse untereinander vergleichbar sind. Das kann aber durch spätere Kontrollversuche entschieden werden; gegebenenfalls dabei ans Licht tretende Differenzen könnten dann vielleicht sogar zu einer Vermehrung unserer Kenntnis in der Weise beitragen, dass sie möglicherweise gestatten würden, bestimmte quantitative Änderungen in einer bestimmten Fraktion des „gebundenen Zuckers“ zu lokalisieren. Vorläufig muss hier die reine Empirie den Weg weisen.

Alles, was wir bis jetzt besprochen haben, bezog sich auf die hydrolysierbaren Substanzen des Blutes, aber fast genau dasselbe trifft auch für alle die fixen Gewebe des Körpers zu. Denn auch hier besteht nicht, wie man meistens denkt, der Vorrat an Reservekohlenhydraten nur aus Glykogen und Lactacidogen, sondern auch hier spielen die chemisch noch unbekanntes hydrolysierbaren Substanzen eine Rolle, die bisweilen nur von untergeordneter Bedeutung ist, in anderen Fällen und unter bestimmten Umständen aber die der bekannteren komplexen Kohlenhydrate bei weitem übertrifft. Auch dieser Punkt ist in den vorigen Seiten eingehend erörtert worden.

Die verwickelten Probleme des „Sucre virtuel“ und der Glykolyse wollen wir an dieser Stelle nicht nochmals besprechen; es genüge der Hinweis auf die betreffenden Seiten im Text.

Begegnet man also bezüglich der qualitativen Seite des Problems noch fast überall Fragezeichen, so steht es etwas besser nach der quantitativen Seite hin, wo man den „gebundenen Zucker“-Gehalt schon unter verschiedenen physiologischen, pathologischen und experimentellen Zuständen verfolgt hat (wobei sich herausstellte, dass meistens im Plasma die Ergebnisse am ausgesprochensten waren). Einiges wollen wir hier nur herausgreifen. Erstens die merkwürdige Tatsache, dass für die verschiedenen Tierarten der Gehalt des Blutes an „gebundenem Zucker“ sich in entgegengesetztem Sinne wie Körpertemperatur und freier Blutzucker ändert, so dass die phylogenetisch am niedrigsten stehenden Tiere den niedrigsten freien Zuckergehalt, aber die höchsten „gebundenen Zucker“-Zahlen aufweisen.

Zweitens die Beobachtung, dass der „gebundene Zucker“-Gehalt von Nahrungsaufnahme und Ernährungszustand in bestimmter Weise beeinflusst wird. Die Einzelheiten haben wir an anderen Orten erwähnt, hier betonen wir nur nochmals die Sache als solche, weil sie mit einen der Beweise bildet, dass der „gebundene Zucker“ mehr ist als ein willkürliches Kunstprodukt.

Am wichtigsten aber sind vielleicht die klinisch erhobenen Befunde. Denn es hat sich herausgestellt, dass gerade bei einer Anzahl der bisher therapeutisch am schwierigsten zu beeinflussenden Krankheiten mit auffällender Konstanz, und zwar besonders wenn die Patienten schwerkrank sind, eine beträchtliche Steigerung des „gebundenen Zucker“-Gehalts feststellbar ist. Im besonderen gilt dies für das Carcinom (wo auch die Tumore selbst einen hohen Gehalt an hydrolysierbarer Substanz aufweisen), aber auch bei fortgeschrittener Tuberkulose und Urämie. Nun ist es natürlich noch eine offene Frage, ob der in erhöhter Menge vorhandene „gebundene Zucker“ in diesen verschiedenen Fällen immer identisch ist; weiter, ob seine Anhäufung die primäre Ursache des Krankseins ist oder erst als sekundäre Begleiterscheinung auftritt. Wie im Text erwähnt, hat man aber schon verschiedene Agenzien kennengelernt, die im Tierexperiment den „gebundenen Zucker“-Wert mehr oder weniger konstant zu erhöhen bzw. zu erniedrigen imstande sind. Zweifellos würde es sich lohnen, besonders diese letzte Kategorie noch näher zu studieren, da sich dann vielleicht die Möglichkeit ergeben würde, irgendeine von den genannten trostlosen Krankheitszuständen in günstigem Sinne zu beeinflussen. Dann wäre schon viel gewonnen.

Wenn wir nun zum Schluss ein Programm für künftige diesbezügliche Arbeiten aufstellen dürfen, so würde dies etwa folgendermassen aussehen:

1. Systematische, genaue chemische Identifizierung der am „gebundenen Zucker“ beteiligten Substanzen in Blut und Geweben, in normalen und pathologischen Umständen. Bei der besonderen Schwierigkeit des Problems erscheint Zusammenarbeit mit erfahrenen Fachchemikern hier unentbehrlich.

2. Systematische Untersuchung der Faktoren, die in vivo den „gebundenen Zucker“-Gehalt regulieren.

3. Genaues Studium der pharmakologischen Beeinflussung des „gebundenen Zucker“-Gehalts, besonders seine Senkung, durch Medikamente und Organpräparate.

4. Systematische Routinebestimmungen des „gebundenen Zucker“-Gehalts an möglichst vielen Kranken zur Bestätigung und Erweiterung des bisher Gefundenen.

5. Erprobung der erniedrigenden Substanzen am Krankenbett in allen den Fällen, wo der „gebundene Zucker“ erhöht ist, besonders beim Carcinom.

Wir sind überzeugt, dass so noch manches Interessante zu finden ist, dass es auch erst so gelingen wird, die vielen Teilstücke, die wir im vorangehenden aus dem Chaos herausgesucht und nach bestem Wissen geordnet haben, zu einem wirklichen Ganzen zu verbinden. Denn von der Unvollkommenheit unserer jetzigen Arbeit ist keiner mehr überzeugt als wir selbst.

## Sachverzeichnis.

- Abkühlung 61, 231 (s. a. Körpertemperatur).  
Acetaldehyd 18, 52, 80, 85, 98, 130, 145, 146, 173.  
Acetanilid s. Antifebrin.  
Acetessigsäure 86, 202, 237.  
Aceton 18, 72, 85, 237.  
Acetonglukose 91, 125, 185.  
Acetonylaceton 72.  
Acetophenon 72.  
Acetylcarbinol 86.  
Acetylmethylcarbinol 86.  
Acetylphenylhydrazin 72.  
Acrolein 98.  
Adenoid 203.  
Adenylsäure 179.  
Adrenalin 19, 50, 114, 121, 129, 130, 133, 218 ff., 224, 226, 237 (s. a. Nebenniere).  
Adsorption 17, 25, 48, 106, 108, 111.  
Äther 24, 221 (s. a. Narcotica).  
Äthylurethan 181, 213.  
Akromegalie 69, 200.  
Akrose 20, 73.  
Alanin 110, 111, 112, 145.  
Albamin 119, 120.  
Albumin 74, 99 ff., 107, 111, 112, 118, 119.  
Aldehyde 18, 181, 237.  
Aldehydschleimsäure 83.  
Aldosen 74, 79, 86, 103, 112, 114, 140.  
Alimentäre Glykämie 192 (s. a. Glucoseverabreichung).  
Alkohole 18, 126, 181, 222.  
Alter 18, 176, 178, 196, 211, 224.  
Ameisensäure 237.  
Aminoäthylalkohol 169.  
Amino-N 35, 91, 111, 204.  
Aminosäuren 19, 110 ff., 237.  
Aminozucker 112 ff., 240 (s. a. Chitosamin und Chondrosamin).  
Ammonsalze 61, 97, 104.  
Amylase 111, 227, 229.  
Amylenhydrat 181.  
Amyloid 185.  
Amylose 60, 63, 112 ff.  
Anämie 239.  
Anaphylaxie 227.  
Anilin 181.  
Antifebrin 181.  
Antiinsulin 218.  
Antipyrin 181, 227.  
Aorta 185.  
Arabinoketose 79, 83.  
Arabinose 72, 73, 79 ff., 84 ff., 112, 166.  
Arginin 110.  
Arteriell Blut 36, 46, 175, 189, 190.  
Arthritische Diathese 200.  
Ascitesflüssigkeit 16, 38.  
Asepsis 46, 54, 110, 141, 143, 148, 149, 152, 160, 225.  
Asparaginsäure 110.  
Aspergillus niger 146.  
Asphyktisches Blut 227.  
Auge 185.  
Autolyse 161.  
Avitaminosen 212, 239.  
  
Bariumhydroxyd 65, 132, 133, 147, 167.  
Basedowsche Krankheit 200.  
Bauchfenster 233.  
Benzol 181.  
Benzoylierung 67, 70, 87, 91, 94, 100, 103, 107, 118 ff.  
Beriberi 212.  
Bernsteinsäuredialdehyd 72.  
Bisulfit 19.  
Bleisalze 65, 227.  
Blutkrankheiten 202, 239.  
Blutverlust 46, 148, 164, 190, 210, 237.  
Blutzucker, physikalische und chemische Eigenschaften 14 ff.  
Blutzuckerbestimmungsmethoden 11 ff.  
Brenztraubensäure 20, 75, 85, 111, 130, 146, 155.  
Bromal 181.  
p-Bromphenylhydrazin 80, 84, 91, 92, 181, 183.  
Buttersäure 20.  
Butyraldehyd 80, 85.  
  
Cammidgezucker 67 ff., 74, 96.  
Campher 181.  
Caramelisation 20.  
Carbazid 81.  
Carcinom 129, 180, 200 ff., 213, 229, 236, 239, 242, 243 (s. a. Tumore).  
Carnithin 171.  
Carnivore 68, 176.  
Cellobiose 77.  
Cellulose 83, 113.  
Cerebroside 56, 59, 169 ff. (s. a. Galaktolipine).  
Chitosamin 23, 75, 76, 88, 90, 101, 103, 107, 119, 120, 180, 183 ff., 202.  
Chitosaminomannose 101, 186.  
Chloral 181.  
Chloralose 191.  
Chloroform 126, 189, 227.  
Cholin 156, 159, 162, 169.  
Chondroitin 75, 77, 167, 237.  
Chondrosamin 58, 76, 167, 183 ff., 231.  
Chondrosin 184.  
Colorimetrische Zuckerbestimmungsmethoden 37, 57.  
Colostrum 175, 176.  
Cornea 185.  
Cystein 186.  
Cystin 20, 97.  
  
Darmschleimhaut 185.  
Dextrin 18, 43, 48, 52, 67 ff., 87, 95, 96, 98, 113, 123, 193, 195, 196, 198, 229, 240.

- Dextrogen 113 (s. a. Glykogen).  
d-Dextroxylohexosamin 74.  
Diabetes 21, 27, 38, 45, 114,  
126, 128, 129, 134, 143,  
151, 165, 179, 182, 183,  
196 ff., 223, 224, 231, 236,  
239 (s. a. Pankreasextir-  
pation).  
— insipidus 200.  
Diacetsäure s. Acetessigsäure.  
Diacetyl 86.  
Diacetylpentosamin 60.  
Dialyse 24, 25, 111, 118, 167.  
Diastase 114, 119, 122.  
Difference value 43, 192, 195ff.,  
208.  
Digitalis 139, 203.  
Dioxyaceton 18, 20, 72, 73,  
79, 83, 85, 111, 144, 145,  
195.  
Dioxyacetonphosphat 155.  
Dipentosamin 60.  
Diphosphoglycerinsäure 154,  
155.  
Diphtherietoxin 126, 222.  
Distearylglucose 166.  
Ductus Wirsungianus, Abbin-  
dung des —, 148, 209.  
Dysoxydative Carbonurie 238.
- Ei 55.  
Eiter 175.  
Eiweisszucker 98 ff., 240.  
Eklampsie 236.  
Elastische Fasern 172.  
Emulsin 78, 141 ff., 168, 207,  
218, 224.  
Enteiweissungsmethoden  
27 ff., 39 ff.  
Ergosterin 138.  
Ergotamin 222.  
Ergothionein 19.  
Ernährungszustand 195 (s. a.  
Hunger, Nahrung).  
Erythrocyten 19, 22, 24, 43,  
46 ff., 108, 133 ff., 147,  
150, 154, 155, 175, 182,  
207, 218, 224.  
Erythrose 83, 86.  
Erythrose 79, 86.  
Euter 62 (s. a. Mamma).  
Exsudate 38.
- Fehlerquellen 83, 96 ff., 172.  
Fette, Fettsäuren, Fettstoff-  
wechsel 124, 156, 159, 170,  
171, 230, 238, 240, 241.  
Fettige Degeneration s. Ver-  
fettung.  
Fettnahrung 62, 129.  
Fettsucht 200.  
Fibrin 74, 106.  
Fibrinogen 99, 106, 107.  
Fibrom 185.  
Filtrierpapier 34, 83, 115, 117,  
149.  
Fische 43, 54 ff., 188.  
Formaldehyd 80, 85, 98.  
Formose 83.  
Fruchtwasser 175.  
Fructogen 113 (s. a. Glykogen).  
Fructose 16, 18, 20, 23, 52,  
53, 66, 77, 79 ff., 83, 85 ff.,  
90, 92, 95, 96, 98, 102,  
103, 110, 112 ff., 120, 123,  
130, 134, 137, 138, 140,  
144, 145, 155, 166, 193,  
194, 225.  
Furfurol 22, 72, 75, 77, 83,  
86, 119, 167, 178, 179, 199.
- Gärung 32.  
Galaktolipine 53, 56, 59, 125,  
133, 136, 156 ff., 169, 170,  
230, 240.  
Galaktosamin 185.  
Galaktose 17, 20, 48, 58, 73 ff.,  
79, 80, 85, 86, 91, 95, 96,  
98, 109, 112, 120, 134, 155,  
166, 170, 184, 193.  
Galle 181.  
Gallensteinleiden 204.  
Galtose 83.  
Gebundenes Fett 124, 127.  
Gefäßgebiete 189.  
Gefrierpunktserniedrigung  
110, 112.  
Gehirn 49 ff., 55, 56, 59, 73,  
170, 171, 177, 178.  
Gelbsucht 203.  
Gentiobiase 74.  
Gerbsäure 64.  
Gesamtkohlenstoff 238.  
Geschlechtliche Tätigkeit 188.  
Glaskörper 185.
- Globulin 74, 75, 77, 99, 101 ff.,  
107, 115, 118, 119, 201.  
d-Gluconsäure 76.  
Glucoprotein 186.  
Glucosamin s. Chitosamin.  
Glucosan 123.  
Glucose (u. a.): 75 ff., 79 ff.,  
85 ff., 95, 96, 98.  
 $\alpha$ -Glucose 73.  
 $\beta$ -Glucose 72.  
 $\gamma$ -Glucose 19, 21, 22, 45, 91,  
97, 182, 186.  
Glucosecarbamid 109.  
Glucoseverabreichung 120,  
134, 167, 181, 190, 192 ff.,  
197, 201, 238.  
Glukoside 47, 68, 108, 141 ff.  
Glukothionsäure 75, 77, 167.  
Glutaminsäure 110, 112, 186.  
Glutathion 19, 186.  
Glycerin 98, 155, 156.  
Glycerinaldehyd 18, 20, 72,  
73, 83, 85, 105, 144, 145,  
154, 155.  
Glycerinaldehydphosphat 155.  
Glyceringlucosid 166.  
Glycerinphosphorsäure 20,  
155, 159.  
Glycerinsäure 20, 155.  
Glycerose 83, 105.  
Glycin 112.  
Glykämie 24.  
Glykämischer Index 187, 188.  
Glykoalbumose 60.  
Glykogen 35, 43, 44, 48, 50,  
54, 57, 58, 60, 62 ff., 68,  
73, 86, 98, 112 ff., 127,  
129, 131, 137, 141, 166,  
169, 179, 185, 188, 190,  
192 ff., 208, 224, 228, 232,  
233, 239 ff.  
Glykoglobulin 105, 149 ff.  
Glykokoll 111, 112, 145.  
Glykolaldehyd 74, 83, 85.  
Glykolyse 32, 46, 89, 90, 133,  
134, 141 ff., 190.  
Glykopepton 120.  
Glykuronsäure 18, 21, 28, 46,  
53, 58, 61, 67, 72, 73, 75 ff.,  
80, 81, 83, 84, 87, 91, 92,  
95, 96, 106, 167, 168, 178 ff.,  
185, 199, 231, 237, 238,  
240.  
Glyoxal 74, 98, 111.

- Glyoxalase 145.  
 Glyoxalmedon 98.  
 Glyoxylsäure 68, 72, 80, 85, 107.  
 Gravidität 128.  
 Guanin 111.  
 Gulonsäure 120.  
 Gulose 74.  
 Gummi 86.  
  
**Harn** 66 ff., 175, 181, 185, 198 ff., 202, 205, 238, 239.  
 Harnblase 185.  
 Harnsäure 19.  
 Harnstoff 109, 110, 237.  
 Helicin 75.  
 Herbivore 68, 176.  
 Herz 51, 72, 139, 177, 225, 226.  
 Herzkrankheiten 202, 203.  
 Hexosamine 183 ff. (s. a. Chitosamin, Chondrosamin, Aminosucker).  
 Hexosephosphate 18, 32, 48, 51 ff., 59, 62, 66, 72, 78, 91, 110, 111, 114, 124, 130 ff., 147, 152 ff., 166, 179, 191, 204, 218, 224, 225, 229, 240, 241.  
 Histamin 222.  
 Hunger 40, 43, 46, 99, 129, 130, 152, 158, 177, 181, 190, 191, 197, 210 ff., 215, 219.  
 Hydrazin 69, 198, 228.  
 Hydrazone 72 ff., 173 (s. a. Osazone).  
 Hydrolyse mit Alkali 15, 101, 116, 119.  
 — mit anorganischen Säuren 15, 26 ff., 142 ff.  
 — mit organischen Säuren 26 ff., 44, 45, 94, 142 ff.  
 Hyosein 227.  
 Hypernephrom 170.  
 Hypertension 206.  
 Hypophyse 69, 127, 139, 177, 226, 235 (s. a. Pituitrin).  
 Hypophysektomie 129, 139.  
 Hy-S, Definition 25, 240.  
  
**Identifizierung der Zuckerarten** 14 ff., 71 ff.  
 Ikterus 203, 204.  
  
 Individuelle Konstanz 187, 204.  
 Infektionskrankheiten 99, 207.  
 Insulin 9, 12, 18, 21, 24, 27, 31, 38, 50, 53, 104, 105, 113, 125, 128 ff., 133, 134, 136 ff., 145, 151, 152, 171, 179, 182, 195, 197 ff., 208, 209, 213 ff., 220, 222 ff., 231 ff., 236, 238, 239 (s. a. Pankreas, Diabetes).  
 Intravenöse und subcutane Zuckereinspritzung 195.  
 Inulin 83, 86, 114.  
 Invertase 141 ff., 190.  
 Isobutyraldehyd 80.  
 Isoglucosamin 23.  
 Isoglykuronsäure 18, 20, 77, 81, 92.  
 Isolierung des freien Blutzuckers 15.  
 Isomaltose 17, 52, 63, 67, 68, 72, 77, 94 ff., 147.  
 Isovaleriansäure 86.  
  
**Jahreszeit** 188, 212.  
 Jecorin 18, 42, 48, 63, 76, 125, 130, 136, 137, 140, 154, 156 ff., 175, 201, 202, 230, 240.  
  
**Kachexie** 206, 207.  
 Kammerwasser 175.  
 Kastration 175, 176, 212.  
 Kephalin 133, 169.  
 Kerasin 56, 169, 170.  
 $\alpha$ -Ketobuttersäure 72.  
 Ketone 181.  
 Ketosen 79, 83, 86, 114, 140.  
 Ketotetrose 83.  
 Knochen 185.  
 Knochenenzym 132, 133.  
 Knochenmark 158.  
 Knorpel 185, 231.  
 Kochsalzinjektion 120.  
 Körpergewicht 211, 224.  
 Körpertemperatur 186, 187, 211, 242 (s. a. Abkühlung).  
 Kohlenoxyd 227.  
 Kreatin 19, 97, 237.  
 Kreatinin 19, 61, 66, 97, 171, 177.  
 Kupfer-Kalk-Verfahren 66, 88.  
  
 Lactacidogen s. Hexosephosphate.  
 Lactation 130 (s. a. Mamma).  
 Lactose 17, 44, 62, 75, 76, 86, 94 ff., 98, 109, 141, 147, 166, 194.  
 Lactosehefe 95, 147.  
 Lävulinsäure 72, 86.  
 Lävulosan (Lävoglucosan) 123.  
 Lävulose s. Fructose.  
 Lävulosurie 16.  
 Laurinsäure 124.  
 Leber 49 ff., 57, 59 ff., 72 ff., 113, 114, 127 ff., 136, 137, 157 ff., 169, 170, 177 ff., 181, 185, 190 ff., 196, 202, 228 ff., 232 ff., 238.  
 Leberextrakte 227.  
 Leberkrankheiten 17, 18, 69, 114, 126, 151, 198, 203, 229, 236.  
 Lecithalbumin 161.  
 Lecithin 155, 166, 168, 174, 230.  
 Lecithinglucose s. Jecorin.  
 Leucin 112.  
 Leukämie 202.  
 Leukocyten 114, 150, 154, 155, 175, 185.  
 Lipoide s. Fette, Galaktolipine, Jecorin, Lecithin, Plasmalogen.  
 Liquor cerebrospinalis 29, 38, 175.  
 Lues 38, 204.  
 Lunge 51, 55, 191.  
 Lungenkrankheiten 203, 236.  
 Lupeose 83.  
 Lymphdrüsen 185, 230.  
 Lymphe 38.  
 Lymphome 16.  
 d-Lyxose 83.  
  
**Magen** 176, 185.  
 Malaria 202, 204.  
 Maltafieber 236.  
 Maltose 17, 28, 52, 60, 65, 68, 74 ff., 81, 94 ff., 98, 105, 109, 111, 166, 193, 194, 196.  
 Mamma 62, 75, 167, 170, 178, 185, 230 (s. a. Lactation, Milch).

- Mannit 124.  
 Mannosamin 184.  
 Mannose 20, 23, 75, 77, 80,  
     81, 85, 90, 95, 96, 101,  
     109, 112, 141, 155, 184.  
 Melibiose 74, 95, 96.  
 Meningitis 38.  
 Menthol 181.  
 Mesoxalsäure 74, 86.  
 Methoden zur Bestimmung des  
     freien Blutzuckers 11 ff.  
 — — — — — Gewebs-  
     zuckers 49.  
 — — — — — gebundenen  
     Blutzuckers 27 ff.  
 — — — — — Gewebs-  
     zuckers 56 ff.  
 Methyläthylketon 80.  
 Methylglyoxal 72, 111, 144,  
     145, 154.  
 Methylonylketon 80.  
 Methylphenylhydrazin 16, 74,  
     79, 103, 170.  
 Milch 175, 176 (s. a. Mamma).  
 Milchsäure 20, 127 ff., 144 ff.,  
     152, 154 ff., 237, 239.  
 Milchsäurebacillen 20.  
 Milz 51, 55, 56, 73, 74, 76,  
     77, 79, 124, 158, 159, 162,  
     167, 169, 170, 177, 178,  
     185, 212, 225, 226.  
 Morphin 24, 120, 164, 221,  
     227.  
 Mucoid 76, 102, 104, 106, 107,  
     119, 181, 185.  
 Mucoproteine 180, 183 ff.  
 Murmeltier 187.  
 Muskel 49 ff., 57, 59, 66, 72 ff.,  
     87, 113, 131, 132, 138, 139,  
     155, 158, 159, 162, 177 ff.,  
     189, 229 ff., 235, 238.  
 Myelinfiguren 157.  
  
 Nabelschnur 185.  
 Nahrung und Nahrungsauf-  
     nahme 18, 106, 120, 121,  
     176, 178, 192 ff., 195 ff.,  
     204, 208 (s. a. Glucosever-  
     abreichung).  
 Naphthol 181.  
 Narkose 61, 223, 227 (s. a.  
     Äther, Chloroform, Chlo-  
     ral, Chloralose, Äthylure-  
     than, Morphin).  
 Nebenniere 69, 158, 159, 169,  
     177, 226 (s. a. Adrenalin).  
 Neoglucose 19, 21, 22, 45, 132.  
 Nervenfasern 115, 177.  
 Niere 49 ff., 55, 139, 140, 167,  
     169, 177, 178, 185, 189,  
     191, 225, 226, 228.  
 Nierenkrankheiten 21, 25, 100,  
     182, 197, 205 ff., 209, 213,  
     236, 242.  
 o-, m- und p-Nitrophenylhy-  
     drazin 80.  
 Nonose 20.  
 Norisozuckersäure 102.  
 Nuclealfärbung 172.  
 Nucleinsäuren 86, 141.  
 Nucleoglobulin 201, 230.  
 Nucleoproteide 53, 62, 73, 131,  
     178 ff., 240.  
 Nucleotide 135, 178 ff., 240.  
  
 Obstipation 204.  
 Optische Rotation 15 ff., 20ff.,  
     45, 46, 52, 70, 88 ff., 94,  
     101, 102, 104, 105, 109 ff.,  
     113, 115, 122, 129, 131,  
     132, 137 ff., 142, 145, 162,  
     169, 179, 182 ff., 186, 225,  
     226, 237 ff.  
 Osazone 15, 17, 23, 32, 42 ff.,  
     51, 52, 59, 60, 62, 64 ff.,  
     70 ff., 89, 90, 93, 95, 100,  
     102, 103, 105 ff., 117 ff.,  
     132, 139, 141, 159 ff., 168,  
     179, 199, 225.  
 Ovarialcysten 121, 185.  
 Ovarium 55.  
 Oxalesigsäure 20.  
 Oxalsäure 74, 122.  
 $\beta$ -Oxybuttersäure 86, 237.  
 Oxydation 145, 146, 154, 174,  
     180.  
 d-Oxyglucosäure 83.  
 p-Oxyphenylbrenztrauben-  
     säure 20.  
 Oxyproteinsäure 202, 237.  
  
 Palmitin 201.  
 Palmitinaldehyd 173.  
 Pankreas 55, 73, 177, 178, 185.  
 Pankreasdurchströmung 225.  
 Pankreaserkrankungen und  
     -exstirpation 18, 53, 69,  
     113, 126, 137, 149, 165,  
     182, 207 ff., 223, 224, 226,  
     229, 231, 237 (s. a. Dia-  
     betes, Insulin).  
 Pankreasextrakte 120, 140,  
     148, 155, 225.  
 Parachloralose 15.  
 Paramilchsäure 156.  
 Pentosane 83.  
 Pentosen 17, 20, 60, 62, 67,  
     68, 70, 78, 83, 86, 95, 109,  
     162, 172, 178 ff., 182, 183,  
     199, 240.  
 Pepsin 111.  
 Peptone 107, 110, 112, 118,  
     222, 227, 230.  
 Perfusate des Gefäßsystems  
     146, 221.  
 Perniziöse Anämie 202.  
 Perseose 86.  
 Perseulose 86.  
 PH 19, 22, 109, 153, 155, 186.  
 Phenol 181, 204.  
 Phenylacetaldehyd 72.  
 Phenylaminoessigsäure 20,  
     111, 145.  
 Phenylhydrazin 15, 71 ff. (s.  
     a. Osazone).  
 Phenylisocyanat 186.  
 Phloretin 228.  
 Phlorhizin 126, 128, 146, 152,  
     156, 165, 189, 191, 217,  
     222, 228, 236.  
 Phospholipine 124.  
 Phosphoresterase des Blutes  
     135.  
 Phosphorvergiftung 114, 126,  
     156, 162, 237.  
 Photokatalyse 154.  
 Phrenosin 169, 170.  
 Phylogenetische Reihe 43, 56,  
     65, 187, 188, 242.  
 Phytokinin 227.  
 Pituitrin 128, 129, 136, 139,  
     220 (s. a. Hypophyse).  
 Placenta 55.  
 Plasma 32, 46 ff., 175, 196.  
 Plasmal 98, 134, 171 ff.  
 Plasmalogen 171 ff.  
 Pleuritis 38, 203.  
 Pneumonie s. Lungenkrank-  
     heiten.

- Polymere Kohlenhydrate 32, 47, 67, 83, 87, 96, 112 ff., 137, 138, 155, 185, 199, 228, 238, 240.
- Portalvene 41, 68, 121, 177, 190, 191, 221.
- Postmortale Änderungen 61, 65.
- Propionaldehyd 80, 85.
- Protagon 166, 168.
- Pseudolävulose 16, 18, 20, 77, 83, 92, 205.
- Ptyalin 121, 122.
- Puerperae 67.
- Purinderivate 19.
- Quantitative Bestimmung des freien Blutzuckers. 11 ff.
- Quecksilbersalze 227.
- Rachitis 138.
- Raffinose 83, 95, 96.
- Reagens n. Brücke 65.
- n. Millon 65, 118.
- n. Patein-Dufau 27, 28, 89.
- Reaktion, Biuret- 59, 64, 65, 118, 119.
- Ferrichlorid- 129.
- Jod- (u. a.) 112 ff., 122, 194.
- Plasmal- (Fuchsinchwefeligsäure) 172 ff.
- Schwefelblei- 107.
- Thymol- 118.
- nach Adamkiewicz 107.
- — Bertrand (Orcin) 86.
- — Bial 18.
- — Cammidge 67, 69.
- — Denigès ( $\alpha$ -Naphthol) 84.
- — — ( $\beta$ -Naphthol) 85.
- — Ehrlich (Dimethylaminobenzaldehyd) 119.
- — Lassaigue 122.
- — Molisch ( $\alpha$ -Naphthol) 59, 65, 70, 82 ff., 101, 118ff. 163, 167, 170, 179, 201, 230, 237, 238.
- — Neumann (Orcin) 86.
- — Seliwanoff (Resorcin) 16, 52, 82, 92, 104, 109, 131.
- Reaktion nach Thomas ( $\beta$ -Naphthol) 85.
- — Tollens (Orcin) 21, 59, 65, 70, 73, 77, 82, 83, 118, 182.
- — — (Phloroglucin) 21, 62, 68, 70, 72, 82, 83, 118, 182.
- — Tollens-Neuberg-Saneyoshi (Naphthoresorcin) 84, 167, 179, 181 ff.
- Reduktionsvermögen 16.
- Resorcin 37, 181.
- Restkohlenstoff 236 ff.
- Restreduktion 19, 21, 49, 66, 163.
- Rhamnose 74, 79 ff., 85, 86.
- Rhodeose 74, 79.
- Riboketose 79.
- Ribose 78, 141, 179.
- Röntgenstrahlen 180, 210.
- Rückenmark 177.
- Saccharomyces 20, 95.
- Saccharosan 123.
- Saccharose 17, 83, 86, 95, 96, 112, 114, 166, 194.
- Säuren 227.
- Salicylate 181.
- Sarkom 185, 200, 230.
- Sarkosin 112.
- Schleimsäure 91, 102, 170.
- Schmelzpunkte der Osazone und Hydrazone 72 ff.
- Schwangerschaft 130.
- Secalose 83.
- Sehnen 167, 185.
- Seifengeruch 157.
- Sekretin 227.
- Shock 227.
- Silbernitrat 65.
- Sklera 185.
- Skorbut 212.
- Sorbose 83.
- Speichel 175.
- Speicheldrüsen 121, 139, 178, 185.
- Splenomegalie 170.
- Stachyose 83.
- Stärke 43, 86, 111, 113, 166.
- Stearinaldehyd 173, 175.
- Stearinsäure 124, 130, 157, 162, 175.
- Sublimat, charakteristische Wirkung auf Plasmalogen 172 ff.
- Sucere virtuel 10, 134, 141 ff., 190, 193, 199, 208, 209, 225.
- Sulphydril 98.
- Sympektothion 19.
- Tagatose 79, 83.
- Takadiastase 73, 78, 147, 207, 218, 224.
- Talosamin 185.
- Terpentin 181.
- Testikel 55, 178.
- Tetraglucosan 124.
- i-Tetrose 83.
- Thiasin 19.
- Thioharnstoff 110.
- Thiohistidinbetain 19.
- Thiosemicarbazid 81, 173 ff.
- Thymol 181.
- Thymonucleinsäure 86, 141, 172.
- Thymus 73, 178, 185.
- Thyreoglobulin 62.
- Thyreoid 72, 73, 177, 178, 226, 235.
- Thyreoidektomie 126, 137, 212.
- Tierisches Gummi 68, 117, 121 ff., 124.
- Toluol 156, 181.
- o-Tolyldiazin 81.
- Tonsillen 203.
- Torula monosa 44, 94.
- Transsudate 38.
- Triosen 83 (s. a. Dioxyaceton, Glycerinaldehyd).
- Trypsin 223.
- Tryptophan 204.
- Tuber cinereum 139.
- Tuberkulose 203, 213, 239, 242.
- Tumore 100, 185, (s. a. Carcinom, Hypernephrom, Lymphom, Sarkom).
- Typhoid 126, 207.
- Tyrosin 112.
- Ultrafiltration 24, 25.
- Ureterunterbindung 209, 237.
- Urethan s. Äthylurethan.
- Urochloralsäure 181.
- Urochrom 19.

Vagusreizung 210.	142, 146, 147, 160, 162,	Zellkerne 172, 179.
Valeraldehyd 80.	167, 182.	Zentralnervensystem 126, 128,
Valin 112.	Vlemose 86.	207, 210.
Venöses Blut 46, 175, 189, 190.	Vlemulose 86.	Zimtaldehyd 74.
Veratrin 228.		Zinkacetat 65.
Verfettung von Organen 126 ff.	Winterschlaf 61, 187.	Zuckeranhydride 123, 238.
161, 162, 171 (s. a. Phos-		Zuckersäure 16, 102, 120, 180,
phorvergiftung).	Xyloketose 79.	183.
Vergärbarkeit 14, 20 ff., 44,	Xylose 73, 79 ff., 84 ff., 112,	Zuckerstich 121, 165, 209,
59, 64, 65, 70, 76, 81 ff.,	141.	210.
89 ff., 104, 110, 122 ff.,		