

# Ueber eine bisher unbekannte reducirende Substanz des Blutes.

Von

Dr. med. **Paul Mayer** (Berlin-Karlsbad).

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts zu Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 13. Mai 1901.)

Durch die Arbeiten von Magendie, Claude Bernard und anderen Forschern ist es festgestellt, dass das Blut eine reducirende, mit Hefe vergärbare Substanz enthält, welche die Ebene des polarisirten Lichtes nach rechts dreht: und seit Langem ist man gewöhnt, diesen Körper als Traubenzucker anzusprechen. Die fortschreitende Entwicklung der Kohlenhydratechemie hat uns jedoch gelehrt, dass die erwähnten Eigenschaften für die Identificirung eines Körpers als Traubenzucker nicht genügen, und so ist der exacte Beweis, dass die Glucose ein normaler Bestandtheil des Blutes ist, eigentlich erst durch Pickardt<sup>1)</sup> erbracht worden, der aus dem Blute das Phenylosazon des Traubenzuckers dargestellt hat.

In Berücksichtigung des Umstandes, dass durch die titrimetrische Bestimmung des Blutzuckers regelmässig höhere Werthe als durch die Polarisation gefunden werden, haben einzelne Autoren die Vermuthung ausgesprochen, dass das Blut ausser dem Traubenzucker noch andere reducirende Substanzen enthalten müsse, die von einigen als Kreatinin, von anderen als Harnsäure aufgefasst worden sind. Die bei weitem bemerkenswerthesten Untersuchungen über diese Frage hat Otto<sup>2)</sup> ausgeführt, der durch genaue quantitative Bestimmungen fest-

1) M. Pickardt, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XVII, 1892: s. a. Miura, Zeitschr. f. Biol., 32, 1895.

2) Otto, Pflüger's Archiv. Bd. 35, 1885.

gestellt hat, dass im Blute ausser der gährungsfähigen Dextrose noch eine gährungsunfähige reducirende Substanz vorkommt, über deren chemische Natur der Autor, wie er selbst hervorhebt, nichts Sicheres auszusagen wagt.

Merkwürdiger Weise haben die Ergebnisse Otto's keinen nennenswerthen Einfluss auf die Lehre von dem Zuckergehalt des Blutes gehabt, wohl hauptsächlich deshalb, weil seit der Entdeckung des Jecorins durch Drechsel<sup>1)</sup> und dem Auffinden dieses Körpers im Blute durch Baldi<sup>2)</sup> alle Autoren, die sich mit den reducirenden Stoffen des Blutes beschäftigt haben, ihr Interesse fast lediglich dem Jecorin zugewendet haben.

Gestützt auf die Thatsache, dass das Jecorin eine reducirende und in Aether lösliche Substanz ist, hat zuerst Jacobsen<sup>3)</sup> die gährungsunfähige reducirende Substanz des Blutes für Jecorin erklärt, weil dieselbe in den Aetherextract des Blutes übergeht; und die weiteren Forschungen dieses Autors gehen von der Voraussetzung aus, dass alle ätherlöslichen reducirenden Substanzen des Blutes Jecorin sein müssen.

Obwohl nun die chemische Constitution des Jecorins noch keineswegs völlig aufgeklärt ist, obwohl die Identität des Blutjecorins mit dem Drechsel'schen Leberjecorin durchaus noch nicht sicher feststeht, und wir nicht einmal über die Natur des aus den verschiedenen jecorinartigen Substanzen abzuspaltenden Kohlehydrates genügend orientirt sind, haben doch alle folgenden Untersucher Henriques, Bing, Kolisch und Steyskal<sup>4)</sup> die Voraussetzung Jacobsen's als Thatsache hingenommen, ohne mit der Möglichkeit zu rechnen, dass im Blute noch andere reducirende Substanzen vorhanden sein können, die gleichfalls in Aether löslich, aber nicht mit dem Jecorin identisch sind. Enthält aber das Blut solche Körper,

1) Drechsel, Ber. d. sächs. Ges. d. Wissensch., 1886, S. 44.

2) Baldi, Du Bois-Reymond's Archiv, physiol. Abth., 1887, Suppl. S. 100.

3) Jacobsen, Centralbl. f. Physiol., 1892, Heft 13.

4) V. Henriques, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXIII, 1895. — Bing, Centralbl. f. Physiol., 1898, Heft 12. — Kolisch u. Steyskal. Wiener klin. Wochenschr., 1897, S. 1101—1103, und Wiener klin. Wochenschrift. 1898, S. 135.

so mussten sich nothwendiger Weise Thatsachen ergeben, die mit der erwähnten Annahme der Autoren schwer vereinbar waren; und so finden wir denn in den verschiedenen Blutjecorinarbeiten eine Reihe von Befunden, deren Deutung auf Schwierigkeiten stösst, welche zum Theil nur durch die Formulierung recht unsicher begründeter Hypothesen umgangen werden.

Die wichtigsten Schlüsse, welche die genannten Autoren aus ihren Untersuchungen ziehen, sind die, dass das Jecorin des Blutes eine Verbindung von Lecithin und Glucose ist, und dass der Traubenzucker nur zum kleinsten Theil präformirt, vielmehr zum überwiegenden Antheil an Lecithin gebunden, eben als Jecorin, im Blute kreist.

Um zu zeigen, auf wie unsicheren Ergebnissen diese Schlussfolgerungen aufgebaut sind, möchte ich nur auf die letzte Arbeit von Bing<sup>1)</sup> aus dem Jahre 1899 hinweisen. Bing ist es gelungen, durch Zusammenbringen von Glycose und Lecithin Lecithinglycose, also nach der Vorstellung der Autoren Jecorin darzustellen. Da nun beim Eintrocknen einer alkoholischen Lösung von Zucker, die gleichzeitig Lecithin enthält, Lecithinzucker entsteht, so muss Bing selbst zugeben, dass bei der Verarbeitung eines alkoholischen Blutextractes die Möglichkeit einer Lecithinzuckerbildung gegeben ist, dass es daher gar nicht entschieden ist, ob das Jecorin wirklich im Blute präformirt ist oder nicht einfach ein Laboratoriumsprodukt darstellt.

Für diese letztere Möglichkeit sprechen jedenfalls Dialysirversuche, die Bing selbst angestellt hat, und die, sowie übrigens bereits frühere Versuche von Arthus,<sup>2)</sup> gezeigt haben, dass der Zucker aus dem Blut bis zum Gleichgewicht zwischen Innen- und Aussenflüssigkeit diffundiren kann. Schon früher war dieser von Arthus erhobene Befund gegen die von Schenk<sup>3)</sup> aufgestellte, später aber von ihm selbst widerrufenen Anschauung, dass der Zucker nicht frei gelöst, sondern an Eiweiss gebunden im Blute circulirt, ins Feld geführt worden.

1) Bing, Skandin. Archiv f. Physiologie, 1899, Nr. 9.

2) Arthus, nach Maly's Jahresbericht 1890.

3) Schenk, Pflüger's Archiv 46, 607.

Bing selbst betont nun zwar, dass das Ergebniss seiner Dialysirversuche nicht gut mit der Annahme einer Bindung des Zuckers vereinbar ist, hilft sich aber mit der Hypothese, dass bei diesem Diffusionsprocess möglicher Weise der Lecithinzucker in seine Componenten zerlegt wird.

Kolisch und Steyskal gehen in ihren Schlussfolgerungen noch weiter, indem sie gleichsam eine doppelte Bindung des Traubenzuckers im Blute annehmen. Da nämlich diese Forscher gefunden haben, dass dem Blute zugesetztes Jecorin nach dem Trocknen über Schwefelsäure durch Aether leicht extrahirbar ist, während das im Blute circulirende Jecorin nur dann vom Aether aufgenommen wird, wenn vorher die Eiweisskörper durch Alkohol gefällt werden, so folgern sie, dass das Jecorin nicht frei, sondern an Eiweiss gebunden im Blute kreist, und dass diese Eiweissverbindung erst durch die Wirkung des Alkohols gespalten wird. Diese Anschauung scheint mir schon im Hinblick auf die erwähnten Dialysirversuche nicht haltbar zu sein, ganz abgesehen davon, dass eine spaltende Wirkung des Alkohols auf Eiweissverbindungen bisher nicht als sicher erwiesen gilt. Allerdings hat Hoppe-Seyler seiner Zeit die Möglichkeit offen gelassen, dass das Vitellin des Eidotters eine durch Alkohol spaltbare Lecithinverbindung sei. Auch Pehelharig<sup>1)</sup> nimmt eine spaltende Wirkung des Alkohols auf das von ihm dargestellte Pepsin an, und in neuester Zeit haben sich Nencki und Sieber<sup>2)</sup> ebenfalls dahin ausgesprochen, dass das Waschen mit Alkohol zersetzend auf complicirte Eiweissverbindungen, wie das von ihnen erhaltene Pepsin, einwirkt.

So sehen wir denn, wie schwankend der Boden ist, auf dem sich unsere Vorstellungen über die Rolle des Jecorins im Blute bewegen, und ohne die Existenz des Jecorins im Blut irgendwie bezweifeln zu wollen, glaube ich doch, dass die bisherigen Untersuchungen nicht ausreichen, um sichere Schlüsse aus denselben ziehen zu können oder gar neue

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXII, S. 233.

2) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXXII, S. 317.

Theorien über den Entstehungsmodus der pathologischen Glycosurien zu construiren.<sup>1)</sup>

Bevor ich auf meine eigenen Untersuchungen eingehe, muss ich noch einer in jüngster Zeit erschienenen Arbeit von Pavy und Siau<sup>2)</sup> Erwähnung thun. Aus der übrigens schon von Anderen festgestellten Thatsache, dass nach der Einwirkung einer Mineralsäure das Reductionsvermögen des Blutes zunimmt, schliessen Pavy und Siau auf die Anwesenheit eines zweiten Kohlehydrates im Blut. Sie fanden nun bei der Osazondarstellung ausser dem typischen Glucosazon stets noch eine andere, erst beim Erkalten ausfallende Verbindung, die den Schmelzpunkt von  $157-158^{\circ}$  zeigte, und die sie deshalb als das Osazon der Isomaltose ansprechen. Lediglich auf Grund dieser Schmelzpunktsbestimmung halten die Autoren es für erwiesen, dass die Isomaltose ein normaler Bestandtheil des Blutes ist. Mir erscheint der Beweis hierfür keineswegs in sicherer Weise erbracht zu sein. Denn vor Allem geht es nicht an, allein aus der Schmelzpunktsbestimmung einer durch Trennung von einem anderen Osazon gewonnenen Phenylhydrazinverbindung bindende Schlüsse auf die Natur eines Kohlehydrates zu ziehen. Wer nur einige Erfahrungen auf diesem Gebiete besitzt, wird zugeben, dass man in der Deutung derartiger aus complicirten Gemischen erhaltenen Phenylhydrazinverbindungen ungemein vorsichtig sein muss; und dies gilt ganz besonders für eine Substanz wie die Isomaltose, deren natürliches Vorkommen überhaupt noch gar nicht so feststeht, wie vielfach angenommen wird. Zudem zeigt der Schmelzpunkt von  $157-158^{\circ}$  eine fast vollkommene Uebereinstimmung mit dem Schmelzpunkt der Pentosazone, und ich konnte in einer früheren Arbeit nachweisen,<sup>3)</sup> dass auch die Glucuronsäure eine Phenylhydrazinverbindung liefern kann, deren Schmelzpunkt bei  $159-164^{\circ}$  liegt. Aus diesen Gründen bedürfen auch die Angaben über das Vorkommen der Isomaltose im Blut einer erneuten Prüfung.

1) Kolisch, Verhandl. des Congr. f. inn. Med., 1900, S. 579.

2) Pavy u. Siau, The journal of Physiologie, XXVI, 3 u. 4, 1901.

3) P. Mayer, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXIX, 1900, Heft 1.

Pavy und Siau erachten allerdings nach ihren Untersuchungen das Vorkommen der Isomaltose im Blut für sicher bewiesen, weil sie auch aus dem Harn Phenylhydrazinverbindungen vom Schmelzpunkt  $157^{\circ}$  erhalten haben. Sehr bemerkenswerth erscheint die Angabe der Autoren, dass sie dieses Osazon am häufigsten aus diabetischen Harnen isoliren konnten, die nur noch Spuren von Zucker, dafür aber grosse Mengen von « Isomaltose » enthielten. Da ich in derartigen diabetischen Harnen wiederholt eine gesteigerte Glucuronsäureausscheidung constatirt habe,<sup>1)</sup> und da eine Phenylhydrazinverbindung der Glucuronsäure vom Schmelzpunkt  $159\text{—}164^{\circ}$  existirt, so ist die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, dass der Körper, den Pavy und Siau als Isomaltose angesprochen haben, Glucuronsäure ist, zumal sie in unbewusster Bestätigung meiner eigenen Angaben mittheilen, dass diese diabetischen Harnen nach dem Vergähren des Zuckers eine ausgesprochene Linksdrehung zeigen und eine deutliche Reduction, die nach dem Kochen mit Säure zunimmt. Es ist also sehr wohl möglich, dass auch das von Pavy und Siau aus dem Blute gewonnene Osazon eine Phenylhydrazinverbindung der Glucuronsäure gewesen ist.

Was nun endlich meine eigenen Untersuchungen anlangt, so knüpfen dieselben an die erwähnten Befunde von Otto an. Ich habe zunächst acht Versuche mit Kaninchen- und Rinderblut angestellt und in einem Falle auch menschliches, durch Aderlass gewonnenes Blut verarbeitet. Es wurden stets 100 bis 200 ccm. des frischen Blutes nach der Abeles'schen Methode enteiwisst, und die völlig eiweissfreien zuckerhaltigen Lösungen im Brutschrank bei  $34^{\circ}$  vergohren. In sechs Versuchen liess ich die Vergährung 12—15 Stunden andauern, nach welcher Zeit der Zucker, wie ich mich durch eine nochmalige Gährungsprobe überzeugt habe, stets vollkommen vergohren war, während ich in zwei Fällen die Vergährung auf 24 Stunden ausdehnte. In den ersten sechs Versuchen konnte ich nun ausnahmslos nach dem Vergähren des Zuckers ebenso

1) P. Mayer' Deutsche medic. Wochenschr., Nr. 16 u. 17. 1901.

wie Otto eine deutliche Reduction nachweisen. Die Lösungen gaben aber ausserdem regelmässig die Phloroglucinprobe und, zum Theil allerdings erst nach genügender Concentration, eine mehr oder minder starke Orcinreaction. Da nun bekanntlich die Hefepartikel aus vergohrenen Flüssigkeiten sich nur schwer bis auf die letzten Spuren entfernen lassen, so war es denkbar, dass diese Reactionen durch Kohlenhydratbestandtheile der Hefe veranlasst waren, obwohl ich diese Fehlerquelle durch wiederholtes Filtriren und Absetzenlassen der Lösungen unter Benützung des besten Filtrirpapiers von vornherein auszuschliessen bemüht war. Ich überzeugte mich jedoch durch in derselben Weise ausgeführte Kontrollversuche an vergohrenen Traubenzuckerlösungen, dass dieselben weder die Phloroglucin- noch die Orcinreaction geben, so dass der positive Ausfall dieser Proben auf im Blute selbst vorhandene Substanzen bezogen werden musste. Da die Phloroglucin- und Orcinprobe vor Allem den Pentosen und der Glucuronsäure zukommen,<sup>1)</sup> so war es sehr wahrscheinlich, dass die nach dem Vergähren des Zuckers noch vorhandene Reduction des Blutes durch Pentosen oder Glucuronsäure hervorgerufen wird.

Die polarimetrische Untersuchung der vergohrenen, sicherlich eiweissfreien Lösung ergab nun jedesmal eine deutliche Linksdrehung, die in einem Falle sogar 0,4%, auf Traubenzucker berechnet, betrug. In der Annahme, dass diese Linksdrehung durch eine gepaarte Glucuronsäure veranlasst war, erhitzte ich die Flüssigkeiten während einer Stunde im Autoclaven mit so viel concentrirter Schwefelsäure, dass die Lösung einer 1%igen  $H_2SO_4$  Lösung entsprach. Der Erfolg dieser Operation war der, dass in allen sechs Fällen die Linksdrehung verschwand, während ich allerdings nur in einem Versuch eine schwache, aber unverkennbare Rechtsdrehung constatiren konnte. Der Umstand, dass es mir unter sechs Versuchen nur einmal gelang, durch die

1) Vor Kurzem hat Neuberg (Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XXXI. Heft 5 u. 6, 1901) festgestellt, dass auch andere Substanzen aus der Reihe der Kohlehydrate diese Proben geben (Glycerose, Glycerinaldehyd, Formose, Aldehydschleimsäure etc.). Diese können jedoch hier kaum in Betracht kommen.

Spaltung mit Säure eine Rechtsdrehung hervorzurufen, konnte keineswegs gegen das Vorhandensein einer gepaarten Glucuronsäure sprechen; denn bekanntlich wird die Glucuronsäure in dem Maass, wie sie abgespalten, zum Theil wieder durch die Säure unter Furfurolbildung zersetzt, so dass es bei sehr geringen Mengen, um die es sich hier nur handeln konnte, lediglich von zufälligen Momenten abhängt, ob nach der Spaltung eine Rechtsdrehung auftritt, da man es eben nicht in der Hand hat, ein Optimum in der spaltenden Wirkung der Schwefelsäure zu erzielen.

Im Gegensatz zu den Resultaten dieser Versuche habe ich in den zwei Fällen, in welchen ich die Vergärung 24 Stunden andauern liess, keinen der soeben besprochenen Befunde constatiren können. Beide Male erhielt ich nach der 24stündigen Vergärung Lösungen, die optisch inactiv waren, Fehling'sche Lösung nicht reducirten und weder die Phloroglucin, noch die Orcinprobe gaben. Es musste also die fragliche Substanz mit dem Zucker mitvergohren sein: und dieser Befund lässt es sehr wahrscheinlich erscheinen, dass auch in den früheren positiven Versuchen ein Theil der reducirenden Substanz bei der Vergärung zerstört worden ist, eine Thatsache, die übrigens nicht vereinzelt dasteht, da nach den Untersuchungen von Külz und Vogel<sup>1)</sup> und nach den Erfahrungen von Salkowski<sup>2)</sup> auch die Pentosen aus glucosehaltigem Harn bei der Vergärung des Traubenzuckers zum Theil mitvergähren.

Da es mir durch die Ergebnisse aller dieser Versuche sehr wahrscheinlich erschien, dass die Glucuronsäure in irgend einer gepaarten Form im normalen Blute circulirt, ging ich daran, aus grösseren Mengen Blut eine Glucuronsäureverbindung darzustellen. Durch die Arbeiten der letzten Jahre ist die Aufmerksamkeit darauf gelenkt worden, dass bei allen Kohlenhydratuntersuchungen in sorgfältigerer Weise, als dies früher

---

1) Külz und Vogel, Zeitschr. f. Biol., Bd. 32, S. 188.

2) E. Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXVII, S. 525 und Berl. klin. Wochenschr., 1895, Nr. 17.

geschehen war, eine Reihe von Vorsichtsmassregeln berücksichtigt werden müssen, deren Ausserachtlassung zweifellos eine theilweise Zersetzung der Kohlenhydrate zur Folge hat, oder zu irrthümlichen Deutungen der gewonnenen Resultate führen kann. Der schädigende Einfluss einer auch nur vorübergehenden alkalischen Reaction auf Zuckerlösungen ist besonders von Bickel<sup>1)</sup> überzeugend nachgewiesen worden; und die bedeutsamen Forschungen Lobry de Bruyn's<sup>2)</sup> haben gezeigt, dass durch die Einwirkung von minimalen Alkalimengen unter gewissen Bedingungen die Glucose, Mannose und Fructose in einander übergehen können, durch welche Thatsache beispielsweise so mancher Befund von Lävulose seine Erklärung finden dürfte, die wiederholt in Ascitesflüssigkeit aufgefunden worden ist,<sup>3)</sup> wie jedoch aus einer Dissertationsarbeit von Baer<sup>4)</sup> hervorgeht, wahrscheinlich nicht präformirt vorhanden war, sondern lediglich ein Laboratoriumsprodukt darstellt.

Ebenso wie die Wirkung der Alkalien wird auch der schädigende Einfluss von Säuren bei allen Blutuntersuchungen in Betracht gezogen werden müssen, besonders wenn es sich um den Nachweis von Glucuronsäure handelt, die zumal bei gleichzeitiger Einwirkung hoher Temperaturen gegen Säuren ausserordentlich empfindlich ist.

In Berücksichtigung dieser Umstände habe ich streng darauf geachtet, stets bei schwachsaurer Reaction zu arbeiten, und habe alle Einengungen im Vacuumapparat bei einer Temperatur, die 50° niemals überschritt, vorgenommen. Um diese Massregeln einhalten zu können, war besonders die Wahl der Enteiweissungsmethode von Bedeutung. Ich bediente mich für meine Zwecke des Abeles'schen Verfahrens, welches meines Erachtens für Kohlenhydratuntersuchungen im Blut sehr empfehlenswerth ist, weil es den grossen Vorzug hat, dass die

1) Bickel, Pflüger's Archiv, Bd. 75, S. 248.

2) Lobry de Bruyn und A. van Ekenstein, Recueil des travaux chimiques des Pays-Bas, Bd. 14, S. 103, 156 u. 203.

3) Pickardt, Berl. klin. Wochenschr., Nr. 39, 1897.

4) Baer, Dissertation (Strassburg), 1899.

wichtigsten Operationen in der Kälte ausgeführt werden. Ich nahm 2 Liter Ochsenblut in Angriff, die ich direkt auf dem Schlachthof während des Schlachtens des Thieres in die vorbereitete Zinkacetatalkohollösung fliessen liess, und die dann weiter genau nach der Vorschrift von Abeles<sup>1)</sup> verarbeitet wurden. Durch die wiederholte Behandlung der Rückstände mit Alkohol wuchs schliesslich die Flüssigkeit bis auf 6 Liter an, die successive im Vacuumapparat bei 40—50° abdestillirt und nach der Vertreibung des Alkohols weiter im Vacuum bis auf 1100 ccm. eingeengt wurden. Die so erhaltene wasserklare Lösung erwies sich als völlig eiweissfrei, reducirte Fehling'sche Lösung sehr intensiv, war aber optisch völlig inactiv, zeigte keine Gährung und gab weder die Phloroglucin-, noch die Orcinprobe. Die quantitative Bestimmung der Reduction durch Wägung des gebildeten Kupferoxyduls ergab auf Traubenzucker bezogen einen Zuckergehalt von 2,17 g, so dass der Procentgehalt der verarbeiteten 2 Liter Blut 0,11 betrug, eine Zahl, die mit den gewöhnlichen Angaben übereinstimmt. Bei der sehr starken Verdünnung der Lösung war der negative Ausfall der Gährung und der Drehung nicht besonders auffallend; aber immerhin hätte man bei einer Lösung von 1100 ccm., die wirklich 2,17 g, also fast 0,2% Zucker enthält, eine geringe Rechtsdrehung erwarten müssen. Es wies also auch dieser Befund darauf hin, dass die Reduction ausser durch Traubenzucker noch durch andere reducirende Substanzen veranlasst sein musste. Nach weiterer Concentration der Flüssigkeit im Vacuum bis auf 500 ccm. zeigte die Lösung deutliche Gährung und eine Rechtsdrehung von 0,3%, die einem Gesamtzuckergehalt (in 2 Liter Blut) von 1,5 g i. e. 0,075% entspricht. Dieser Werth bleibt nicht unerheblich hinter dem durch Reduction bestimmten von 2,17 g i. e. 0,11% zurück.

Da ich nun wegen der früher gemachten Erfahrung, dass ein Theil der gesuchten Substanz bei dem Vergähren des Zuckers mitvergährt, die supponirte Glucuronsäure nachzu-

<sup>1)</sup> Abeles. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XV, S. 495.

weisen beabsichtigte, ohne vorher den Zucker zu vergähren, ich aber andererseits auch hier die nach dem Vergähren auftretende Linksdrehung constatiren wollte, habe ich von den 500 ccm. meiner Lösung 100 ccm. zum Vergähren angesetzt; diese zeigten in der That nach dem Vergähren eine sichere Linksdrehung von 0,1—0,2 %. Durch die Spaltung mit Säure wurde die Lösung inactiv; eine Rechtsdrehung trat nicht ein. Die Hauptmenge der aus dem Blut gewonnenen Lösung wurde nun zunächst mit Bleiessig und Ammoniak gefällt, um alle störenden Körper möglichst zu entfernen. Der in  $H_2O$  suspendirte Niederschlag, in den der grösste Theil des Zuckers und die gesuchte Glucuronsäureverbindung übergegangen sein mussten, wurde mit  $H_2S$  zersetzt, und nach Trennung vom ausgeschiedenen Bleisulfid und Befreiung von gelöstem Schwefelwasserstoff durch Einleiten von Luft, restirten 300 ccm. einer Flüssigkeit, die im Vacuum bis auf 150 ccm. eingeeengt wurden. Die resultirende Lösung reducirte intensiv, zeigte deutliche Gährung und eine Rechtsdrehung von 0,5%, und gab in exquisiter Weise die Phloroglucinprobe und die stärkste Orcinreaction. Da für die Darstellung eines Glucuronsäurederivats nur die Neuberg'sche p-Bromphenylhydrazinverbindung<sup>1)</sup> in Betracht kommen konnte, musste es gelingen, wenn Glucuronsäure in der zuckerhaltigen Lösung vorhanden war, dieselbe zu isoliren, ohne den Zucker vorher aus der Flüssigkeit durch Vergähren zu entfernen.

Denn Neuberg<sup>2)</sup> hat festgestellt, dass, während die p-Bromphenylhydrazinverbindungen sämmtlicher Hexosen und Pentosen in absolutem Alkohol löslich sind, allein das glucuronsaure p-Bromphenylhydrazin in absolutem Alkohol vollkommen unlöslich ist. Durch Behandlung mit absolutem Alkohol musste also die Bromphenylhydrazinverbindung der Glucuronsäure von gleichzeitig gebildeten anderen Verbindungen getrennt werden können.

Nachdem ich also die 150 ccm. betragende Lösung in der gewöhnlichen Weise im Autoclaven unter Zusatz von

1) C. Neuberg, Ber. d. chem. Ges., Bd. 32, S. 2395—2398.

2) C. Neuberg, Ber. d. chem. Ges., Bd. 33, S. 3323.

1,5 ccm. concentrirter  $H_2SO_4$  der Spaltung unterworfen hatte, um die Glucuronsäure aus ihrer gepaarten Verbindung in Freiheit zu setzen, wurde dieselbe ohne Rücksicht auf noch vorhandene Zuckermengen nach genauer Neutralisation mit Natriumcarbonat mit 3 g p-Bromphenylhydrazinacetat behandelt. Es bildete sich unter Einhaltung der nothwendigen Vorsichtsmassregeln<sup>1)</sup> eine reichliche Menge von gelben Krystallen, die an der Saugpumpe abgesaugt und mit absolutem Alkohol so lange gewaschen wurden, bis der letztere völlig farblos abfloss. Bei der Alkoholbehandlung ging ein nicht unbeträchtlicher Theil in Lösung; es blieb aber eine prachtvoll lichtgelbgefärbte Verbindung zurück, die über  $H_2SO_4$  getrocknet und gewogen wurde. Ich erhielt so 0,1369 g einer p-Bromphenylhydrazinverbindung, deren Schmelzpunkt bei 227° bis 229° lag, sich also auf Grund der Schmelzpunktsbestimmung<sup>2)</sup> und der Unlöslichkeit in absolutem Alkohol als glucuronsaures p-Bromphenylhydrazin charakterisirte. Der exacte Beweis hierfür wurde durch die N-Analyse erbracht, die folgendes Resultat ergab:

0,0842 g Substanz: 5,5 ccm. N (13°, 759 mm.),

$C_{12}H_{17}O_7N_2Br$ : Berechnet: N = 7,35 %.

Gefunden: N = 7,72 %.

Da es somit unzweifelhaft festgestellt war, dass die aus dem Blute von mir gewonnene p-Bromphenylhydrazinverbindung thatsächlich glucuronsaures p-Bromphenylhydrazin war, so ist es sicher erwiesen, dass die Glucuronsäure in gepaarter Form ein normaler Bestandtheil des Rinderblutes ist.

Man wird diesen Befund wohl ohne Weiteres auf das Menschenblut übertragen können, besonders da ich das charakteristische Verhalten des Blutes nach der Vergärung des Zuckers — Linksdrehung, Reduction, Phloroglucin- und Orcinprobe — auch im menschlichen Blute constatirt habe, und meine früheren Untersuchungen es bereits sehr wahr-

1) Bezüglich dieser s. Mayer und Neuberg, Diese Zeitschr., Bd. XXIX, Heft 3, 1900, S. 264, Anm. 2.

2) Das absolut reine glucuronsaure p-Bromphenylhydrazin schmilzt nach Neuberg bei 230°, während der Schmelzpunkt aller anderen von Neuberg untersuchten Bromphenylhydrazinverbindungen unter 210° liegt.

scheinlich erscheinen liessen, dass die Glucuronsäure im normalen Blut circulirt. In welcher Bindung die Glucuronsäure im Blute vorhanden ist, darüber müssen erst weitere Untersuchungen Aufschluss geben. Ebenso wenig bin ich heute im Stande, irgend etwas Sicheres über die quantitativen Verhältnisse auszusagen, zumal selbstverständlich die Möglichkeit vorliegt, dass das Blut ausser der Glucuronsäure noch andere nicht gährende reducirende Substanzen — Jecorin etc. — enthält. — Und eine der wichtigsten Aufgaben weiterer Forschungen wird es gerade sein, die Beziehungen der Glucuronsäure zu dem sogenannten Jecorin des Blutes klarzustellen. Das eine scheint mir bereits jetzt ausser Zweifel zu stehen, dass ein Theil der von den betreffenden Autoren als Jecorin angesprochenen Substanz Glucuronsäure gewesen ist. Denn da die «Gepaarten Glucuronsäuren» in Aether löslich sind, so muss auch die im Blute vorhandene Glucuronsäureverbindung in den Aetherextract des Blutes übergehen; und wenn Jacobsen<sup>1)</sup> findet, dass der in Aether lösliche reducirende Stoff nach dem Kochen mit Säure nicht mehr ätherlöslich ist, so erscheint dies jetzt völlig verständlich; denn durch die Wirkung der Schwefelsäure wird eben die Glucuronsäure von ihrem Paarling abgespalten, und die freie Glucuronsäure ist in Aether unlöslich. Jedenfalls wird der Befund, dass die Glucuronsäure ein normaler Bestandtheil des Blutes ist, in Zukunft bei allen Blutzuckerbestimmungen entsprechend gewürdigt werden müssen, zumal es mir nach meinen eigenen Untersuchungen über die Ausscheidungsverhältnisse der Glucuronsäure zweifellos erscheint, dass in gewissen Fällen, in denen bisher eine Vermehrung des Blutzuckers angenommen worden ist, lediglich der Glucuronsäuregehalt des Blutes erhöht sein dürfte; und dies um so mehr, als bereits Otto<sup>2)</sup> durch quantitative Bestimmung der Reduction vor und nach der Gährung die Thatsache constatirt hat, dass in einzelnen Fällen nicht der eigentliche Zuckergehalt, sondern nur die nicht gährende reducirende Substanz vermehrt ist.

---

1) Jacobsen, Skandin. Arch. f. Physiol., 1895.

2) Otto, l. c.

---