

# Über synthetische Zuckerbildung in der künstlich durchströmten Leber.

Von

Gustav Embden, Ernst Schmitz und Maria Wittenberg.

Mit 13 Kurvenzeichnungen im Text.

(Aus dem städtischen chemisch-physiologischen Institut zu Frankfurt a. M.)

(Der Redaktion zugegangen am 7. Oktober 1913.)

In einer kürzlich veröffentlichten Untersuchung konnte gezeigt werden,<sup>1)</sup> daß d-l-Glycerinaldehyd durch gewaschene Blutkörperchen vom Hunde mit außerordentlicher Schnelligkeit in Milchsäure umgewandelt wird, während die dem Glycerinaldehyd entsprechende Ketose, das Dioxyaceton, entweder gar nicht oder doch in weitaus geringerem Maße als Glycerinaldehyd dieser Umwandlung unterliegt.

Die aus Glycerinaldehyd gebildete Milchsäure bestand aus einem Gemenge von d-l-Milchsäure und l-Milchsäure, während aus Traubenzucker unter genau den gleichen Versuchsbedingungen ausschließlich d-Milchsäure entstanden war.

Auch bei der künstlichen Durchströmung der Leber unter Glycerinaldehydzusatz bildete sich sehr reichlich Milchsäure. Am Schlusse des Versuches konnte aus dem Durchblutungsblut nur d-l-Milchsäure isoliert werden.

Da von vornherein im Durchblutungsblut eine nicht unerhebliche Menge d-Milchsäure vorhanden gewesen war, war also auch während der Leberdurchblutung die unnatürliche l-Komponente überwiegend gebildet worden.

Aus Dioxyaceton bilden die Blutkörperchen des Hundes, wie bereits eben erwähnt, nur in sehr geringem Umfange Milchsäure, so daß das optische Verhalten der entstandenen

<sup>1)</sup> Embden, Baldes und Schmitz, Über den Chemismus der Milchsäurebildung aus Traubenzucker im Tierkörper. Biochem. Z., Bd. 45, S. 108. 1912.

Milchsäure nicht mit voller Sicherheit festgestellt werden konnte.

In der künstlich durchbluteten Leber bildete Dioxyaceton sehr viel stärker Milchsäure als beim bloßen Stehen gewaschener Hundeblutkörperchen.

Aus der Versuchsflüssigkeit konnte hier ausschließlich natürliche d-Milchsäure gewonnen werden.

Unterdessen konnte A. Loeb<sup>1)</sup> in einer im hiesigen Institut ausgeführten Arbeit zeigen, daß die Blutkörperchen vom Schwein weitaus stärker als die des Hundes aus Dioxyaceton Milchsäure bilden. In Übereinstimmung mit dem Verhalten des Dioxyacetons bei der Leberdurchblutung konnte hier ausschließlich d-Milchsäure als Umwandlungsprodukt des Dioxyacetons isoliert werden, wie aus einer Arbeit W. Griesbachs<sup>2)</sup> hervorgeht.

Die sicher feststehende Tatsache, daß der Hauptweg des Traubenzuckerabbaus über Milchsäure führt und zwar ausschließlich über d-Milchsäure, und die weitere Beobachtung, daß Glycerinaldehyd unter denselben Versuchsbedingungen wie Traubenzucker und in weitaus stärkerem Maße als die letztgenannte Substanz Milchsäure bildet, ließ uns die bereits früher öfters ausgesprochene Vermutung, daß Glycerinaldehyd ein Zwischenprodukt des Traubenzuckerabbaues zu Milchsäure sei, eingehend in Erwägung ziehen.

Auf den ersten Blick erschien es allerdings befremdlich, daß Glycerinaldehyd nicht wie Traubenzucker reine d-Milchsäure bildete, sondern ein Gemenge von d-Milchsäure und l-Milchsäure, in dem die letztere überwog.

Wenn wirklich Glycerinaldehyd als Abbauprodukt des Traubenzuckers in Betracht kommen sollte, so hätte er unseres Erachtens wie Traubenzucker reine d-Milchsäure bilden müssen.

Nun hatten wir aber unsere Versuche mit dem bisher ausschließlich zugänglichen d-l-Glycerinaldehyd vorgenommen,

---

<sup>1)</sup> A. Loeb, Über die Milchsäurebildung aus Traubenzucker, Glycerinaldehyd und Dioxyaceton im Rinder- und Schweineblut, Bioch. Z., Bd. 50, 1913, S. 451.

<sup>2)</sup> W. Griesbach, Über Milchsäurebildung aus Kohlenhydraten im lackfarbenen Blute, ebenda, S. 457.

und auf diesen Umstand glaubten wir es zurückführen zu dürfen, daß die von der aus Traubenzucker gebildeten Milchsäure sterisch abweichende Form mitentstanden war. Wir gelangten zu der Vorstellung, daß der optisch einheitliche Glycerinaldehyd, wie er bei einer Aldoldepolymerisation des Traubenzuckermoleküls in seiner Mitte auftreten würde, wie Traubenzucker selbst unter dem Einfluß tierischer Gewebe in reine d-Milchsäure übergehen würde. Diese Vorstellung konnte nur zu Recht bestehen, wenn die optische Natur der aus Glycerinaldehyd entstehenden Milchsäure von der sterischen Beschaffenheit des Glycerinaldehyds abhängig ist. Sollte aber die optische Natur des Glycerinaldehyds bestimmend auf das optische Verhalten der aus dem Glycerinaldehyd entstehenden Milchsäure einwirken, so mußte nach unserer Anschauung die asymmetrische Beschaffenheit des Glycerinaldehydmoleküls in allen Phasen seiner Umwandlung zu Milchsäure erhalten bleiben.<sup>1)</sup>

In dieser Anschauung wurden wir bestärkt durch die Beobachtung, daß Glycerin in der künstlich durchströmten Leber reichlich natürliche d-Milchsäure bildet.<sup>2)</sup> Es lag mindestens sehr nahe, anzunehmen, daß der Abbau des Glycerins in der Leber beginnt mit einer Oxydation zu Triose, und die Leichtigkeit, mit der nach älteren und neueren Untersuchungen Glycerin sich im Organismus in Traubenzucker umwandelt, wäre am einfachsten verständlich, wenn etwa zwei Moleküle oxydativ aus Glycerin entstandenen Glycerinaldehyds sich direkt zu Traubenzucker kondensierten.

Wir haben bereits in einer früheren Untersuchung darauf hingewiesen, daß die intermediäre Bildung von Glycerinaldehyd beim Traubenzuckerabbau zu Milchsäure dann noch sehr viel wahrscheinlicher erscheinen würde, wenn es gelänge, zu zeigen, daß der umgekehrte Prozeß, d. h. eben die Syn-

---

<sup>1)</sup> Auf die seitdem geäußerten abweichenden Anschauungen C. Neubergs und die von H. Dakin auf Grund seiner Untersuchungen geäußerten Vorstellungen wird an einer anderen Stelle einzugehen sein.

<sup>2)</sup> Oppenheimer, Siegfried, Über Milchsäurebildung in der künstlich durchströmten Leber. II. Mitteilung. Biochem. Zeitschr., Bd. 45, S. 30, 1912.

these von Traubenzucker aus Glycerinaldehyd mit besonderer Leichtigkeit vor sich geht,<sup>1)</sup> und wir konnten auf damals freilich noch nicht abgeschlossene Versuche hinweisen, die in diesem Sinne zu sprechen schienen.

Seitdem ist Parnas<sup>2)</sup> der Nachweis gelungen, daß Glycerinaldehyd in der künstlich durchströmten Schildkrötenleber reichlich Glykogen bildet.

Dieser Autor scheint allerdings der Ansicht zuzuneigen, daß der Glycerinaldehyd nicht durch direkte Aldolkondensation, sondern auf dem Umwege über Glycerinsäure, Glykolaldehyd-carbonsäure und Glykolaldehyd in Traubenzucker übergeht, und betont dementsprechend, daß er eine Stütze für die Annahme, daß Glukose im tierischen Organismus zu Glycerinaldehyd zerfällt, in seinen Befunden nicht erblicken könne.

Die eben geschilderte Anschauung von Parnas hat neuerdings C. Neuberg<sup>3)</sup> stark betont.

In der vorliegenden Arbeit haben wir uns die Aufgabe gestellt, in erster Linie die Triosen auf ihre Fähigkeit zur Zuckerbildung in der isolierten Leber zu untersuchen, und namentlich auch die Frage zu entscheiden, auf welchem Wege diese Zuckerbildung erfolgt.

Wir nahmen unsere sämtlichen Versuche an der Säugtierleber und zwar ausschließlich an der des Hundes vor, einmal deswegen, weil uns am Säugetierorganismus gewonnene Erfahrungen weit eher als Versuche am Kaltblüter auf den Menschen übertragbar erschienen und vor allem auch deshalb, weil sich bald herausstellte, daß die künstlich durchblutete Hundeleber, wenigstens unter den von uns gewählten Versuchsbedingungen, aus sehr viel weniger zahlreichen Substanzen in deutlich erkennbarer Weise Zucker zu bilden imstande ist, als z. B. die Schildkrötenleber.

---

<sup>1)</sup> Embden, Baldes, Schmitz, l. c., S. 127.

<sup>2)</sup> Parnas, J., Über Bildung von Glykogen aus Glycerinaldehyd in der Leber. Centralblatt für Physiologie, Bd. 26, S. 671, 1912.

<sup>3)</sup> Neuberg, C., Die Gärungsvorgänge und der Zuckerumsatz in der Zelle. Jena 1913, S. 21. Siehe auch Oppenheimers Handbuch der Biochemie, Ergänzungsband 1913, S. 589.

Für die Entscheidung mancher Frage ist sicherlich die stärkere Beeinträchtigung der künstlich durchbluteten Hundeleber in ihren natürlichen Lebensfunktionen von großem Nachteil.

Im vorliegenden Falle aber, wo es sich nicht darum handelte, etwa die Frage zu entscheiden, aus welchen Substanzen in der lebenden Leber überhaupt Zucker synthetisch gebildet werden kann, sondern vielmehr darum, aus welchen Körpern eine solche Kohlenhydratsynthese mit besonderer Leichtigkeit erfolgt, schien uns die größere Empfindlichkeit der Hundeleber gegen die mit der Trennung vom Gesamtorganismus verbundene Schädigung von besonderem Vorteil zu sein.

### Methodik.

Eine gewisse Schwierigkeit für unsere Versuche war dadurch gegeben, daß die Hundeleber auch im Zustande völliger Glykogenfreiheit bei der künstlichen Durchströmung schon ohne jeden Zusatz zum Durchblutungsblute sehr deutlich Zucker bildet.<sup>1)</sup>

Wir haben daher zunächst festgestellt, wie in einer glykogenfreien oder doch äußerst glykogenarmen Leber während einer kurzen Durchströmung die Zuckerbildung zeitlich verläuft, um auf die so gewonnenen Normalkurven unsere Zusatzversuche aufzubauen.

Im einzelnen gingen wir folgendermaßen vor:

Hunde — an Gewicht von etwa 6—10kg — wurden während 3—3½ Tagen, ohne daß sie Nahrung erhielten, dreimal täglich mit maximalen Phloridzindosen subcutan behandelt. Die Durchblutung geschah in den Versuchen dieser Arbeit, um eine von vornherein möglichst zuckerarme Durchströmungsflüssigkeit zu verwenden, nicht mit Vollblut, sondern mit einer Suspension von gewaschenen Hundebutkörperchen in zucker- und bicarbonatfreier Ringerlösung.

---

<sup>1)</sup> Embden, G., Über Zuckerbildung bei künstlicher Durchblutung der glykogenfreien Leber. Hofmeisters Beiträge, Bd. 6, S. 44, 1905.

Die Herstellung der Durchströmungsflüssigkeit geschah in folgender Weise:

Ein oder mehrere normale große Hunde, die am Versuchstage ohne Nahrung blieben, wurden in Äthernarkose aus beiden Carotiden entblutet, das in einem sterilen, eisgekühlten Gefäß aufgefangene Blut durch Schlägen defibriert, durch sterile Gaze kolliert und auf einer großen Kosselschen Zentrifuge unter Zusatz von eisgekühlter Ringer-Lösung zentrifugiert.

Nach dem Absaugen des durch die Ringer-Lösung von vornherein verdünnten Serums wurden die Blutkörperchen noch zweimal im Zentrifugenglas mit möglichst viel Ringer-Lösung gut durchgerührt und jedesmal wieder zentrifugiert. Nach der Entfernung der letzten Ringer-Lösung wurden die Blutkörperchen mit neuer Ringer-Lösung auf  $\frac{5}{4}$  des ursprünglichen Blutvolumens aufgefüllt. Mit der so gewonnenen Flüssigkeit wurde die Durchströmung vorgenommen. Ihre Menge betrug meist etwas mehr als 2000 ccm. Im einzelnen ist sie aus der Tabelle am Schlusse der Arbeit ersichtlich.

Mit einem Teil der Durchströmungsflüssigkeit wurde unmittelbar vor dem Versuchsbeginn eine Zuckerbestimmung vorgenommen.

Die Veränderungen des Blutzuckergehaltes während der Durchströmung wurden von 10 zu 10 Minuten untersucht. Jedesmal wurden 70—80 ccm des aus der Lebervene entströmenden Blutes entnommen.

Meist dauerten die Durchblutungsversuche 70—80 Minuten, so daß während des Verlaufs bzw. am Schlusse der Durchströmung 7—8 Blutentnahmen vorgenommen wurden.

Zur Fällung des Blutes, die natürlich sofort nach der Entnahme ausgeführt wurde, bedienten wir uns der Eisenmethode von Michaelis und Rona (in einer Reihe früherer Versuche auch des Schenckschen Verfahrens).

Das Blut wurde bei der Eisenfällung in ca. 700 ccm destilliertes Wasser eingegossen und, sobald es lackfarben geworden war, im dünnen Strahl und unter dauerndem Schütteln mit 200 oder 250 ccm kolloidaler Eisenhydroxydlösung versetzt und schließlich nach 10 Minuten langem Stehen mit 15 bis

30 ccm einer Natriumsulfatlösung die bis dahin fast klar gebliebene Flüssigkeit gefällt. (Die Natriumsulfatlösung war durch Auflösen von 300 g Natriumsulfat in 600 ccm Wasser hergestellt.) Nur selten erwiesen sich kleine Abweichungen von diesem Verfahren oder Nachfällungen der gewonnenen Filtrate mit ganz geringen Mengen Eisenlösung als notwendig.

Die einzelnen Fällungen in jedem Versuch wurden in genau gleicher Weise ausgeführt.

Die Flüssigkeiten blieben entweder über Nacht im Eisschrank stehen oder wurden noch am Tage des Versuchs filtriert und je 600 ccm der völlig klaren und farblosen Filtrate bei schwach salzsaurer Reaktion und einer 45° nicht übersteigenden Temperatur des Heizwassers im Vakuum auf ein geringes Volumen eingengt und wieder auf genau 50 ccm aufgefüllt.<sup>1)</sup>

Mit einigen Tropfen starker Natronlauge wurde die Flüssigkeit deutlich alkalisch gemacht, von dem sich stets in geringer Menge abscheidenden Niederschlag abfiltriert und meist an 40 ccm der Flüssigkeit die Titration des Zuckers nach Lehmann-Maquenne vorgenommen.

### Versuchsergebnisse.

In der nachfolgenden Tabelle 1 sind 8 Versuche zusammengestellt, aus denen der Verlauf der Zuckerbildung bei der Durchblutung der völlig oder nahezu glykogenfreien Hundeleber mit der oben beschriebenen Durchströmungsflüssigkeit ohne weiteren Zusatz hervorgeht.<sup>2)</sup> (Siehe folgende Tabelle.)

In der ersten mit 0 bezeichneten Kolonne ist der Anfangszuckergehalt des Blutes angegeben. In 7 von den 8 Versuchen ist er außerordentlich gering, er schwankt zwischen 0,00 und 0,015 ‰. Nur in Versuch 6 war offenbar die Waschung

<sup>1)</sup> In einem Teil der Versuche wurde die eingengte Flüssigkeit zunächst im 4 dm-Rohr polarimetrisch untersucht.

<sup>2)</sup> In den Versuchen 3—8 wurde die Durchströmungsflüssigkeit eine halbe Stunde nach Versuchsbeginn zwecks besserer Vergleichbarkeit mit den späteren Versuchen mit 200 ccm Ringer-Lösung verdünnt.

Tabelle 1. — Leerversuche.

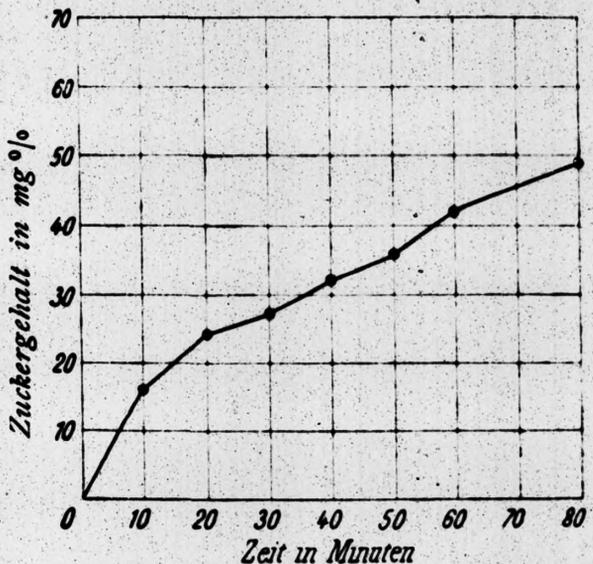
Nr. des Versuchs	Zuckergehalt in Prozenten der Durchströmungsflüssigkeit									Zuckerbildung in der zweiten Versuchsperiode %
	Vor Versuchsbeginn	Nach 10 Min.	Nach 20 Min.	Nach 30 Min.	Nach 40 Min.	Nach 50 Min.	Nach 60 Min.	Nach 70 Min.	Nach 80 Min.	
1	0	0,016	0,024	0,027	0,032	0,036	0,042	?	0,049	0,022
2	0	0,029	0,034	0,038	?	0,046	0,051	0,053	0,057	0,019
3	0,005	0,017	0,019	0,023	0,024	0,027	0,031	0,035	0,036	0,013
4	0,002	0,021	0,024	0,022	0,027	0,031	0,034	0,036	0,039	0,017
5	0,004	0,017	0,019	0,023	0,027	0,029	0,030	0,034	0,035	0,012
6	0,040	0,040	0,054	0,056	0,052	0,055	0,058	0,063	—	0,007
7	0,015	0,041	0,047	0,054	0,057	0,057	0,063	0,062	—	0,008
8	0,003	0,007	0,009	0,016	0,021	0,022	0,029	0,027	—	0,011

der Blutkörperchen eine weniger vollkommene, hier beträgt der Blutzuckergehalt 0,040%. Aus der Tabelle und deutlicher noch aus den Diagrammen der einzelnen Versuche geht hervor, daß die Kurve der Zuckerbildung im Leerversuche recht charakteristisch verläuft.

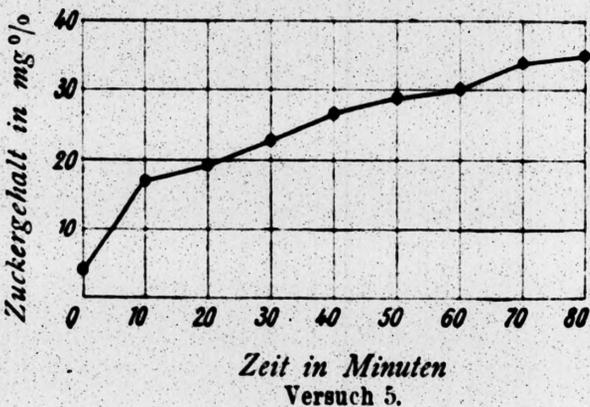
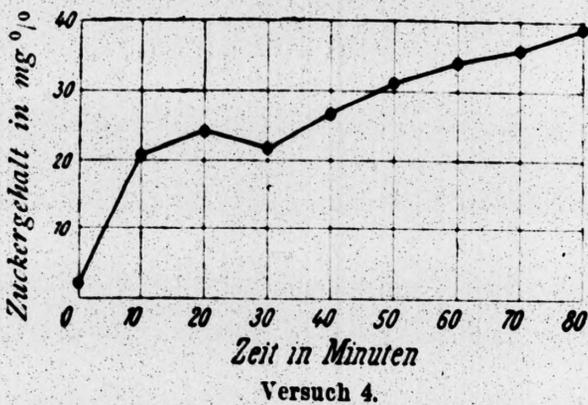
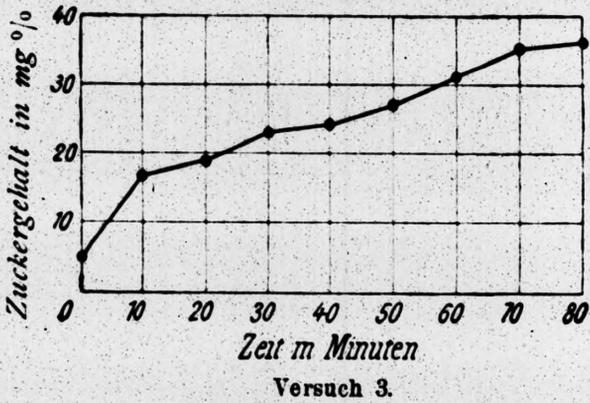
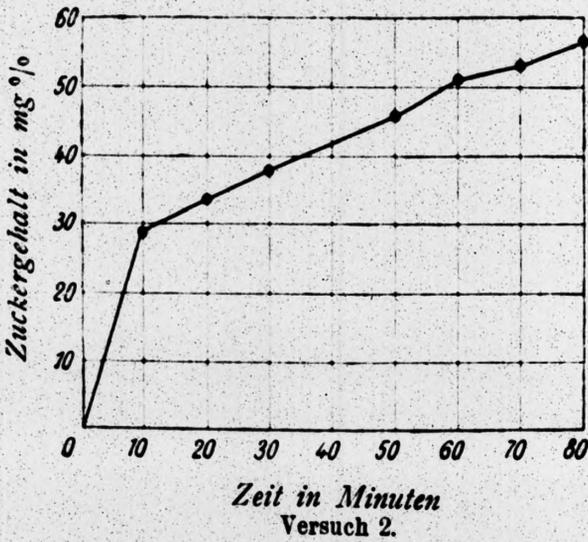
Im allgemeinen steigt der Zuckergehalt in der ersten Zeit der

Durchblutung relativ steil an, in der nachfolgenden Versuchsperiode erfolgt der Anstieg erheblich langsamer, namentlich nach Ablauf der ersten 20 Minuten. So ist in Versuch 1 z. B. während der ersten 10 Minuten der Zuckergehalt von

0,00% auf 0,016% angewachsen, in den zweiten 10 Minuten steigt er um 8 Milligrammprozent. Die Zuckerbildung in den folgenden Perioden schwankt von 3 Milligrammprozent bis 6 Milligrammprozent pro 10 Minuten.



Versuch 1.

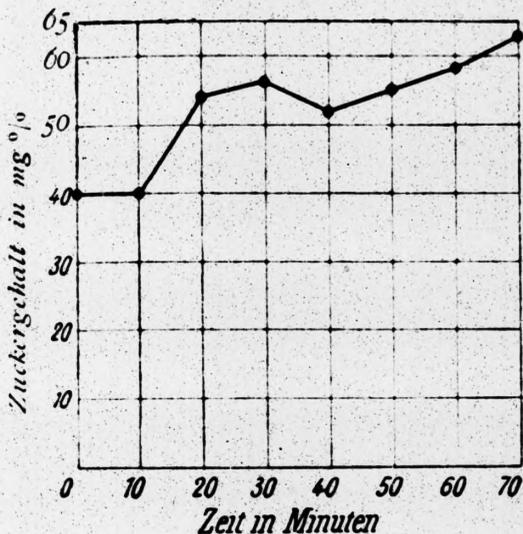


Die Gesamtzuckerbildung in der zweiten Versuchsperiode, d. h. nach Ablauf der ersten halben Stunde, beträgt 0,022 %.

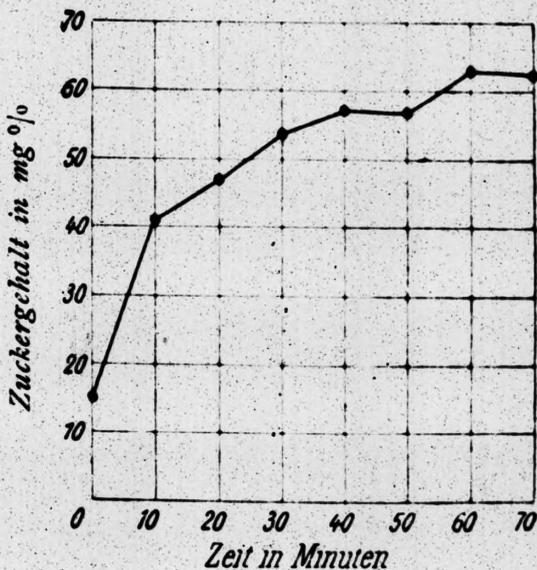
In den folgenden Versuchen ist der Verlauf der Zuckerbildung im allgemeinen ein recht ähnlicher und im einzelnen namentlich aus den Kurven ersichtlich.

In den Versuchen 1—5 schwankte die Zuckerbildung in den letzten 50 Minuten, d. h. nach Ablauf der ersten halben Stunde, zwischen 0,022 % in dem bereits besprochenen Versuch 1, und 0,012 % in Versuch 5. In den Versuchen 6—8 dauerte im ganzen die Durchströmung nur 70 Minuten; so daß hier sich die Zahlenangaben für die Zuckerbildung in der zweiten Versuchsperiode auf 40 Minuten beziehen. Hier schwankt die Zucker-

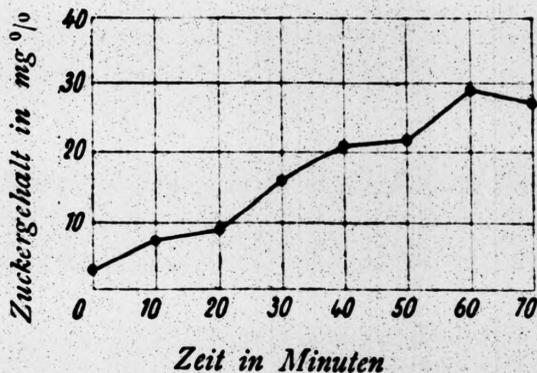
bildung in dieser zweiten Versuchsperiode zwischen 0,007 und 0,011 %.



Versuch 6.



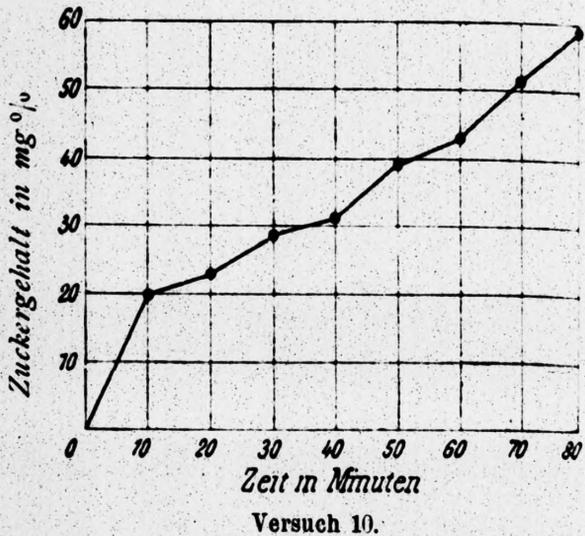
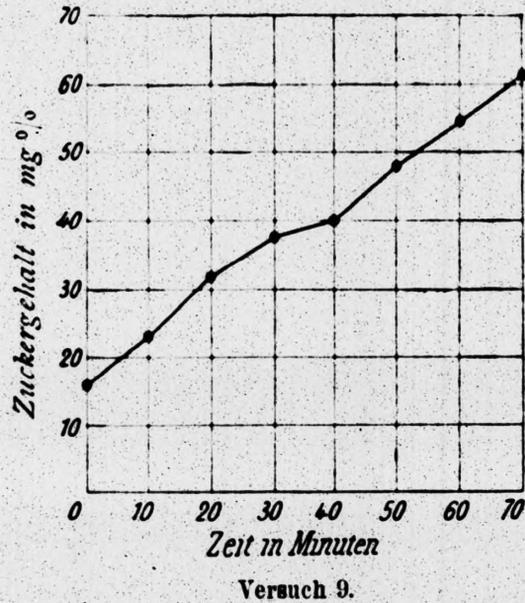
Versuch 7.



Versuch 8.

Tabelle 2. — Glycerinversuche.

Nr. des Versuchs	Zuckergehalt in Prozenten der Durchströmungsflüssigkeit									Zuckerbildung in der zweiten Versuchsperiode %
	Vor Versuchsbeginn	Nach 10 Min.	Nach 20 Min.	Nach 30 Min.	Nach 40 Min.	Nach 50 Min.	Nach 60 Min.	Nach 70 Min.	Nach 80 Min.	
9	0,016	0,023	0,032	0,038	0,040	0,048	0,055	0,061	—	0,023
10	0	0,020	0,023	0,029	0,031	0,039	0,043	0,051	0,059	0,030



In Tabelle 2 sind die Ergebnisse zweier Versuche unter Zusatz von 6 bzw. 8 g Glycerin in 200 ccm Ringer-Lösung wiedergegeben. Der Zusatz der Substanz erfolgte wie in sämtlichen Versuchen dieser Arbeit erst nach Ablauf der ersten 30 Minuten.

Die zweite Versuchsperiode, d. h. die unter Glycerinzusatz, dauerte in Versuch 9 nur 40 Minuten, in Versuch 10 50 Minuten. Die Zuckerbildung während dieser zweiten Versuchsperiode beträgt in Versuch 9 0,023%<sub>0</sub>, sie ist also merklich höher als die Zuckerbildung während der zweiten Versuchsperioden der mit Versuch 9 unmittelbar vergleichbaren Versuche 6—8. Der entsprechende Wert für die zweite Versuchsperiode von Versuch 9 geht mit 0,030%<sub>0</sub> ebenfalls merklich über den höchsten entsprechenden ohne Zusatz gewonnenen Wert (Versuch 1 0,022%<sub>0</sub>) hinaus. Während der ersten 40 Minuten der zweiten Versuchsperiode trat in Versuch 10 eine Vermehrung des Zuckers um 0,022%<sub>0</sub> ein, also fast genau um den gleichen Betrag wie in Versuch 9.

Es scheint also, als ob Glycerinzusatz bei unserer Versuchsanordnung eine Steigerung der Zuckerbildung hervorruft, die allerdings so gering ist, daß wir diesen Versuchen einen entscheidenden Wert nicht beimessen möchten.

Bei Verabreichung an normale Tiere erweist sich Glycerin als ein besonders kräftiger Glykogenbildner und es vermag dementsprechend die Zuckerausscheidung beim Diabetes in hohem Maße zu steigern. In der künstlich durchströmten Schildkrötenleber bildet Glycerin ebenfalls sehr deutlich Glykogen.

Wenn in unseren Versuchen die Zuckerbildung aus Glycerin nur äußerst schwach war,<sup>1)</sup> so dürfte das wohl sicher darauf zurückzuführen sein, daß die Hundeleber unter den Bedingungen der künstlichen Durchströmung weit schwerer in ihren Funktionen geschädigt ist, als die Schildkrötenleber, worauf oben bereits hingewiesen wurde.

Auch d-l-Glycerinsäure und Glykolaldehyd vermögen, wie aus einer demnächst zu veröffentlichenden Arbeit hervorgeht, den Umfang der Zuckerbildung in der Leber nicht deutlich zu steigern, obgleich diese Substanzen nicht nur in der isolierten Schildkrötenleber, sondern auch bei ihrer Verabreichung an diabetische Hunde die Zuckerausscheidung außerordentlich stark vermehren.

Wir gehen nunmehr zur Besprechung unserer Versuche mit Dioxyaceton und d-l-Glycerinaldehyd über.

Hier ergab sich eine technische Schwierigkeit insofern, als es galt, die gebildete Hexose neben noch vorhandenen Resten von Triose zu bestimmen.

In besonderen Vorversuchen bemühten wir uns zunächst, die Lehmann-Maquennesche Methode für die getrennte Bestimmung der Triosen und des Traubenzuckers zu benutzen.

Wir stellten dabei die Tatsache fest, daß Trioselösung während halbstündigen Stehens mit Fehlingscher Lösung bei Zimmertemperatur das Maximum ihres Reduktionswertes erreicht (sie reduziert dann gerade so stark wie nach zwei Minuten langem Kochen mit Fehlingscher Lösung). Traubenzuckerlösungen von der geringen Konzentration, wie sie bei unseren Versuchen in Betracht kamen, rufen dagegen während halbstündigen Stehens bei Zimmertemperatur nur eine sehr geringfügige Reduktion Fehlingscher Lösung hervor.

<sup>1)</sup> Eine Glykogenbildung findet, wie wir uns in vielen Versuchen an der glykogenfreien Leber überzeugt haben, in der künstlich durchströmten Hundeleber wenigstens bei unserer Versuchsanordnung nicht statt.

In einer Mischung von Triose und Traubenzucker von bekanntem Gehalt an beiden Substanzen kann man daher den Traubenzuckergehalt mit leidlicher Genauigkeit bestimmen, wenn man einmal eine «Heißreduktion» ausführt, d. h. zu 20ccm Fehlingscher Lösung gemessene Mengen Triose- und Hexoselösung von bekanntem Gehalt bringt, mit Wasser auf 60ccm auffüllt, nun zum Sieden erhitzt und zwei Minuten im Sieden erhält, um schließlich die Titration nach Lehmann-Maquenne vorzunehmen.

Von dem bei der Heißreduktion gewonnenen Gesamtwert für Traubenzucker und Triose zieht man den bei halbstündiger «Kaltreduktion» für Triose erhaltenen ab. Die Differenz zwischen Heiß- und Kaltreduktion wird als Traubenzucker nach der Maquenneschen Tabelle berechnet.

Wie bereits erwähnt, gibt diese Methode, wenn man reine Traubenzuckerlösungen von bestimmtem Gehalt mit reinen Trioselösungen mischt und nun sofort die Titration vornimmt, recht befriedigende Ergebnisse.

Das ist aber nicht der Fall, wenn man Durchblutungsblut, das Traubenzucker und Triose nebeneinander enthält, untersucht.

Entnimmt man während der Durchblutung eine Blutprobe, deren eine Hälfte man sofort unter Anwendung des Eisenverfahrens in der oben geschilderten Weise weiter verarbeitet, während man zur andern Hälfte eine bekannte Menge Glycerinaldehyd oder Dioxyaceton hinzufügt, so ist stets der in der triosehaltigen Lösung für «Traubenzucker» ermittelte Wert zu hoch. Offenbar kommt es während der Verarbeitung der Blutfiltrate bis zur Titration teilweise schon zu einer Umwandlung der Triose, durch die die Triose dem Nachweis durch «Kaltreduktion» entzogen wird<sup>1)</sup>.

Wir haben daher teils neben den eben geschilderten titrimetrischen Versuchen, teils auch ohne Titrations vorzunehmen, den Zuckergehalt polarimetrisch ermittelt.

<sup>1)</sup> Es dürfte sich vielleicht um eine geringe Hexosebildung aus Triose handeln.

Dieses Verfahren lieferte sehr befriedigende Ergebnisse bei unseren Versuchen mit Dioxyaceton, die wir zunächst besprechen wollen.

Tabelle 3. — Dioxyacetonversuche.

Nr. des Versuchs	Zuckergehalt in Prozenten der Durchströmungsflüssigkeit									Zuckerbildung in der zweiten Versuchsperiode %
	Vor Versuchsbeginn	Nach 10 Min.	Nach 20 Min.	Nach 30 Min.	Nach 40 Min.	Nach 50 Min.	Nach 60 Min.	Nach 70 Min.	Nach 80 Min.	
11	0,018	0,026	0,022	0,035	0,038	[0,123]	[0,130]	[0,156]	[0,198]	[0,163]
12	0,018	0,033	0,036	0,043	[0,081]	[0,115]	[0,142]	[0,169]	—	[0,126]
13	<b>0,005</b>	<b>0,031</b>	<b>0,036</b>	<b>0,031</b>	<b>0,068</b>	<b>0,109</b>	<b>0,130</b>	<b>0,156</b>	<b>0,182</b>	<b>0,151</b>
	0,012	0,027	0,033	0,033	[0,082]	[0,104]	[0,128]	[0,219]	[0,163]	[0,130]
14	—	<b>0,005</b>	<b>0,010</b>	<b>0,028</b>	<b>0,039</b>	<b>0,088</b>	<b>0,125</b>	<b>0,151</b>	<b>0,177</b>	<b>0,149</b>
15	0	<b>0,017</b>	<b>0,017</b>	<b>0,014</b>	<b>0,064</b>	<b>0,097</b>	<b>0,135</b>	<b>0,177</b>	<b>0,218</b>	<b>0,204</b>

Die 5 Versuche mit dieser Substanz sind in Tabelle 3 Nr. 11—15 zusammengestellt. Auch hier erfolgte der Zusatz der Substanz erst nach 30 Minuten langer Durchströmung ohne Zusatz, in Versuch 11 erst nach 40 Minuten. In den Versuchen 11 und 12 wendeten wir ausschließlich das titrimetrische Verfahren an. Die nach dem Zusatz des Dioxyacetons für Traubenzucker ermittelten Werte dürfen daher keinen Anspruch auf Zuverlässigkeit erheben. Immerhin sieht man, daß nach dem Zusatz des Dioxyacetons zum Durchblutungsblut die bis dahin flach verlaufende Kurve während der ganzen weiteren Versuchsdauer steil ansteigt. Die titrimetrisch ermittelte Zuckerbildung während der zweiten Versuchsperiode, d. h. nach dem Zusatz des Dioxyacetons, beträgt in Versuch 11 0,163%, in Versuch 12 0,126% (in beiden Fällen dauerte die zweite Versuchsperiode 40 Minuten), also mehr als das Zehnfache als in den unmittelbar mit diesen Versuchen vergleichbaren Leerversuchen 6 bis 8 der Tabelle 1.

Größeren Anspruch auf Zuverlässigkeit dürfen die Ergebnisse der Versuche 13—15 machen, in denen die Zuckerbestimmung auf polarimetrischem Wege erfolgte. Zur polarimetrischen Untersuchung wurden die, wie gewöhnlich, im

Vakuum eingeengten Blutfiltrate auf 50 ccm aufgefüllt, nochmals bis zur völligen Klarheit filtriert und im 4 dm-Rohr untersucht.

In der ersten Versuchsperiode, d. h. vor dem Zusatze des Dioxyacetons, sind die beobachteten Drehungswinkel so gering, daß die unvermeidlichen Beobachtungsfehler von  $\pm 0,01$  bis  $0,02^\circ$  von wesentlichem Einfluß auf das Ergebnis sind. Nach dem Zusatz des Dioxyacetons steigen aber die Drehungswerte von 10 zu 10 Minuten ganz erheblich an. In Versuch 13 sind die polarimetrisch ermittelten Werte fettgedruckt, die nach dem Dioxyacetonszusatz titrimetrisch gewonnenen ebenso wie in allen übrigen Versuchen eingeklammert.

In der ersten Versuchsperiode stimmen, wenn wir von der sofort vorgenommenen Bestimmung absehen, die polarimetrisch und titrimetrisch gewonnenen Zahlen ausreichend miteinander überein, in der zweiten Versuchsperiode ist dies nur in einem Teil der Bestimmungen der Fall, was fraglos durch die obenerwähnte Fehlerhaftigkeit der titrimetrischen Bestimmung hervorgerufen ist.

Die polarimetrische Bestimmung ergibt in Versuch 13 während der ersten Versuchsperiode nach Ablauf von 10 Minuten kaum einen deutlichen Anstieg (Zuckergehalt nach 10, 20 und 30 Minuten  $0,031\%$ ;  $0,036\%$ ,  $0,031\%$ ), der nun erfolgende Dioxyacetonzusatz bewirkt in 10 Minuten einen Anstieg des Zuckers auf  $0,068\%$ . Dieser Anstieg dauert während der ganzen zweiten Versuchsperiode an, um am Schlusse des Versuches den Wert von  $0,182$  zu erreichen. Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse in den Versuchen 14 und 15. Der Endwert beträgt in Versuch 14 nach Ausweis der polarimetrischen Bestimmung  $0,177\%$ , in Versuch 15 gar  $0,218\%$ .

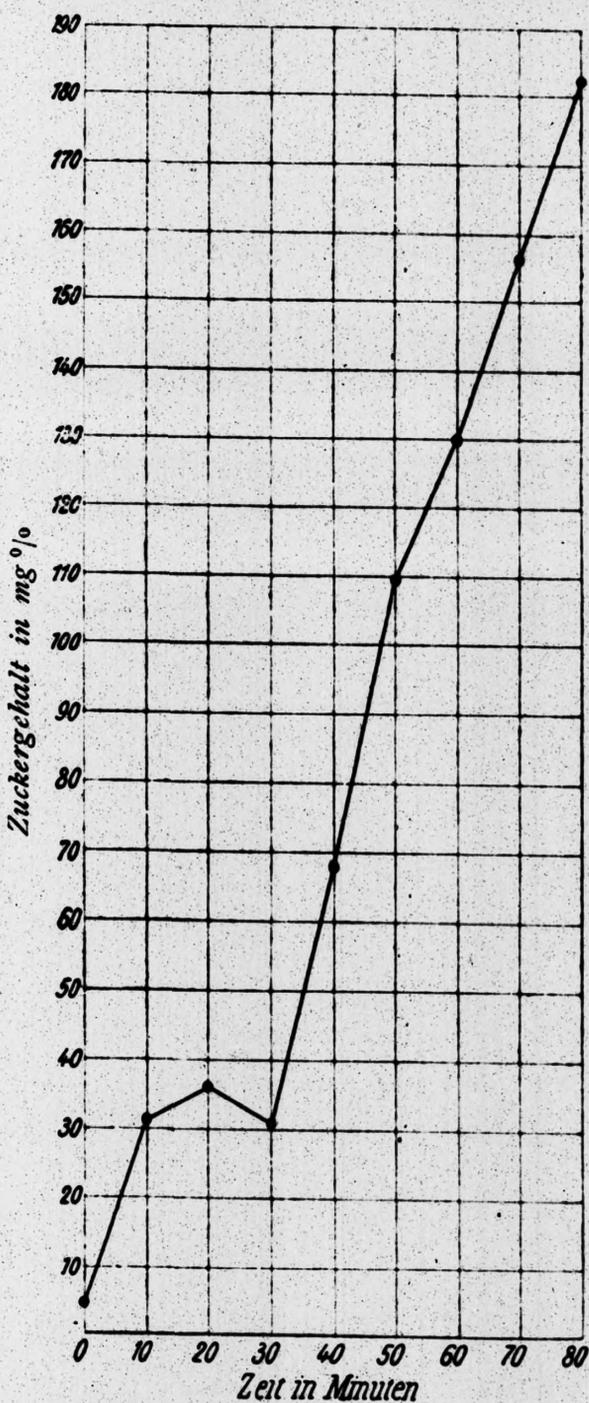
Die polarimetrisch ermittelte Zuckerbildung während der zweiten Versuchsperiode betrug in den letztbesprochenen drei Versuchen  $0,151\%$ ,  $0,149\%$  und  $0,204\%$ , gehörte also einer ganz anderen Größenordnung an, wie in entsprechenden Leerversuchen. Die Beeinflussung der Zuckerbildung durch den Dioxyacetonzusatz geht auch sehr deutlich aus den auf Grund der polarimetrischen Untersuchung dargestellten Diagrammen der Versuche 13—15 hervor.

Ein Anteil von dem gleichen Filtrat, das für die letzten Bestimmungen dieser Versuche zur polarimetrischen Untersuchung verwendet

wurde, wurde in diesen drei Versuchen vergoren; nach 12 bis 20stündiger Vergärung wurde die Gärflüssigkeit mit einigen Tropfen kolloidalen Eisenhydroxyds gefällt, 600 ccm des klaren farblosen Filtrates bei schwach saurer Reaktion im Vakuum eingeengt und unter genau den gleichen Bedingungen wie die nicht vergorenen

Flüssigkeiten polarisiert. In den Versuchen 13 und 14, in denen die abgelesenen Drehungswinkel am Ende der Durchblutung ohne Vergärung unter eben diesen Bedingungen  $0,35^\circ$  und  $0,34^\circ$  betragen hatten, waren nach der Vergärung die Flüssigkeiten optisch inaktiv, in Versuch 15 betrug der Drehungswinkel vor der Vergärung  $0,42^\circ$ ,

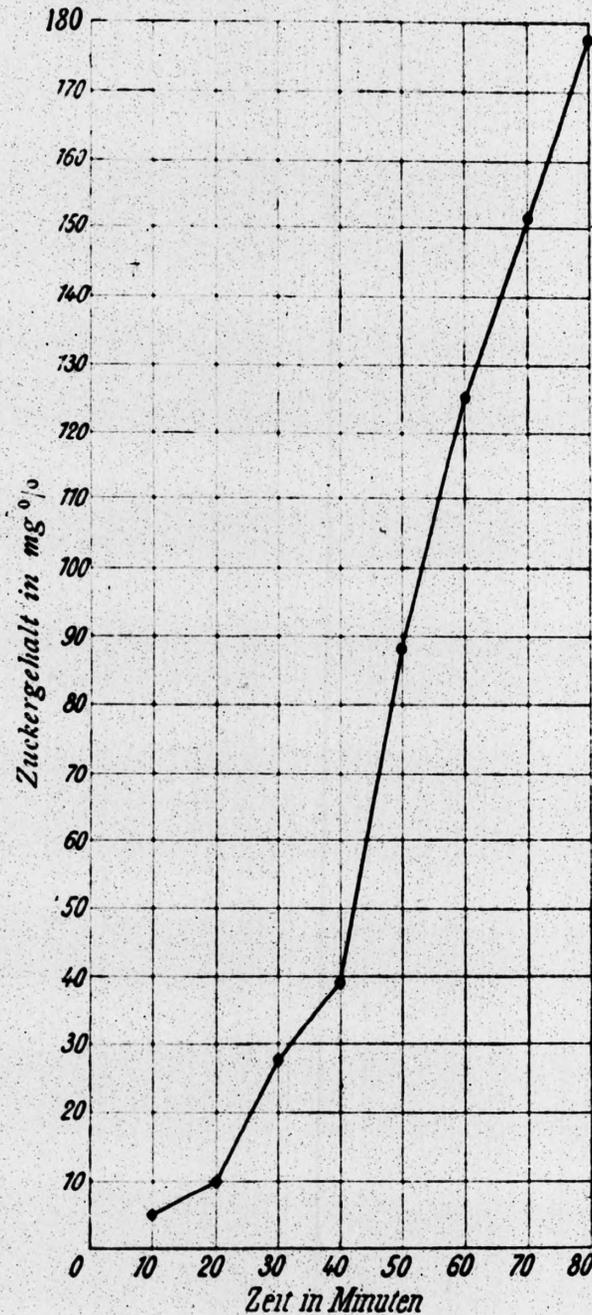
nach der Vergärung, die nur 12 Stunden dauerte, war hier noch eine Spur Rechtsdrehung ( $0,01-0,02^\circ$ ) vorhanden. Der rechtsdrehende Zucker, der nach Zusatz von Dioxyaceton zum Durchblutungsblut aufgetreten war, war also leicht ver-



Versuch 13.

gärbar. Es handelte sich wohl fraglos um nichts anderes als d-Glukose.

In einem der Versuche wurde nach Vergärung der Endflüssigkeit eine Kalt- und Heißreduktionsbestimmung vorgenommen.



Versuch 14.

Die beiden Bestimmungen lieferten ein übereinstimmendes Ergebnis. Es war also in der vergorenen optisch inaktiven Flüssigkeit außer einer geringen Menge Dioxyaceton kein Zucker mehr vorhanden.

Der Anteil des Dioxyacetons, der während der 50 Minuten langen Durchblutung der Leber in Traubenzucker übergegangen war, ist keineswegs unerheblich, er bezieht sich in allen Versuchen jedenfalls nach Grammen.

Ehe wir auf den bei der Umwandlung von Dioxyaceton in Traubenzucker in Betracht kommenden Chemismus näher eingehen, wollen wir die Ergebnisse der Versuche mit d-l-Glycerinaldehyd mitteilen.

Die Schwierigkeiten der Reduktionsbestimmung sind hier im Prinzip ganz dieselben, wie beim Dioxyaceton, nur liegen die Verhältnisse insofern etwas günstiger, als am Ende des Versuches Glycerinaldehyd nur in sehr geringen Mengen vor-

handen ist. Wird doch schon durch die Hundebutkörperchen allein Glycerinaldehyd äußerst leicht unter Bildung von Milchsäure und anderen noch unbekanntem

Substanzen zum Verschwinden gebracht. (Siehe nebenstehende Tabelle.)

Daß das Ansteigen der Zuckerwerte während der Durchblutung nach dem Zusatz von Glycerinaldehyd nicht etwa nur durch Bestimmungsfehler infolge der Anwesenheit von Glycerinaldehyd bedingt ist, geht schon daraus hervor, daß trotz des rapiden

Verschwindens der letzteren Substanz die titrimetrisch ermittelte Zuckermenge während der zweiten Versuchsperiode fast ausnahmslos dauernd zunimmt. Den größten Anspruch auf Zuverlässigkeit dürfen die Schlußzahlen in jedem Versuch erheben, weil hier nur noch sehr geringe Mengen Glycerinaldehyd vorhandensind. Der Verlauf der Zuckerbildungskurve in den

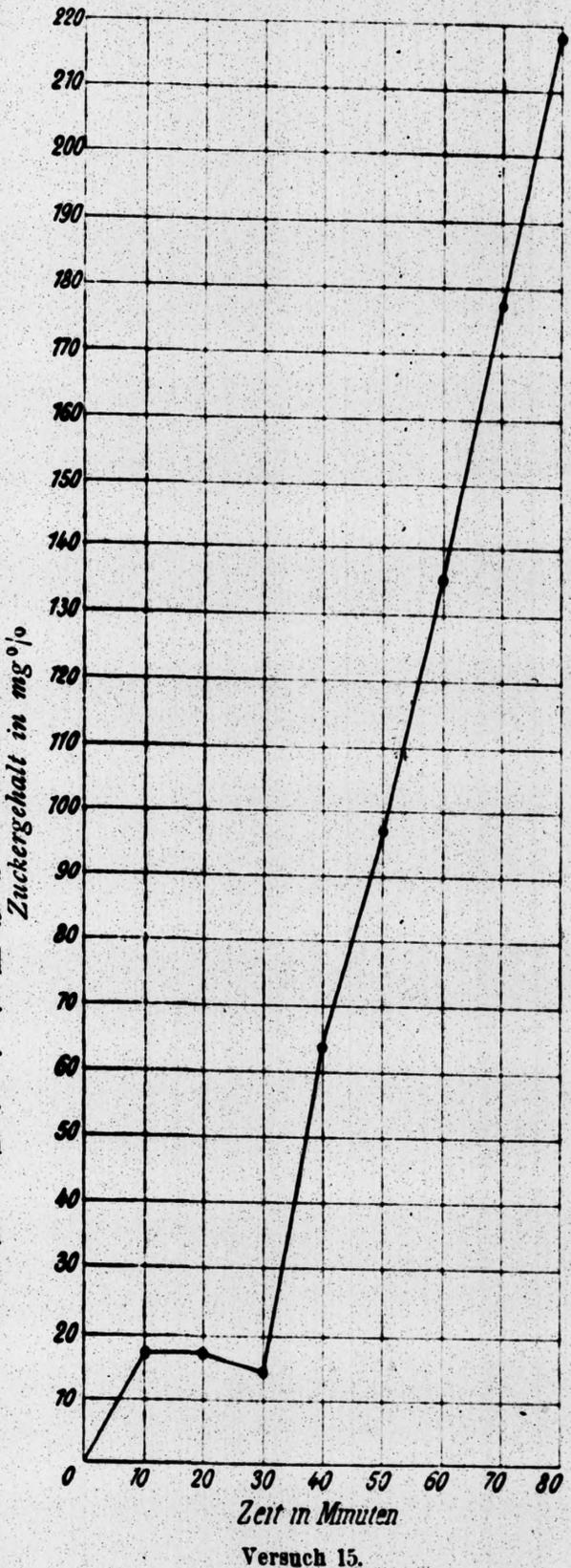


Tabelle 4. — Glycerinaldehydversuche.

Nr. des Versuchs	Zuckergehalt in Prozenten der Durchströmungsflüssigkeit									Zuckerbildung in der zweiten Versuchsperiode %
	Vor Versuchsbeginn	Nach 10 Min.	Nach 20 Min.	Nach 30 Min.	Nach 40 Min.	Nach 50 Min.	Nach 60 Min.	Nach 70 Min.	Nach 80 Min.	
16	0,016	0,028	0,036	0,036	[0,078]	[0,096]	[0,101]	[0,082]	—	[0,046]
17	0,023	0,039	0,034	0,025	[0,044]	[0,053]	[0,048]	[0,082]	—	[0,057]
18	0,019	0,037	0,039	0,048	[0,099]	[0,138]	[0,148]	[0,159]	—	[0,111]
19	0	0,008	0,008	0,019	[0,065]	[0,065]	—	[0,072]	[0,080]	[0,061]
20	—	0,026	0,026	0,036	[0,073]	[0,085]	[0,087]	[0,093]	[0,102]	[0,066]

Glycerinaldehydversuchen ist von jenem in den Dioxyacetonversuchen in charakteristischer Weise verschieden. In beiden Fällen erfolgt nach dem Zusatz der Substanz zunächst ein steiler Anstieg, der beim Dioxyaceton sich bis zum Schlusse des Versuches in unverminderter oder fast unverminderter Stärke fortsetzt, beim Glycerinaldehyd mit der Dauer des Versuches aber mehr und mehr an Steilheit abnimmt.

Das Dioxyaceton ist für die Blutkörperchen nur sehr wenig angreifbar, und es gelangt daher weit mehr von dem Dioxyaceton wirklich in die Leberzellen, als von dem schon durch das Blut allein so leicht zerstörbaren Glycerinaldehyd.

Die Zuckerzunahme während der zweiten Versuchsperiode schwankt in den fünf Glycerinaldehydversuchen der Tabelle 4 zwischen 0,046% in Versuch 16 und 0,111% in Versuch 18, ist also ganz wesentlich größer als in den Leerversuchen der Tabelle 1, während sie hinter der Zuckerbildung in den Dioxyacetonversuchen merklich zurückbleibt.

Da in den Glycerinaldehydversuchen die Zuckerbestimmung mittels Reduktion nur einen bedingten Wert hat, was durch Einklammerung sämtlicher nach dem Glycerinaldehydzusatz gewonnener Werte zum Ausdruck gebracht ist, haben wir natürlich auch hier versucht, den Zucker auf polarimetrischem Wege zu bestimmen.

Doch ließ uns auch dieses Verfahren, das uns in den

Dioxyacetonversuchen so gute Dienste geleistet hatte, bei den Glycerinaldehydversuchen im Stich.<sup>1)</sup>

Statt einer Zunahme der Rechtsdrehung beobachteten wir in den untersuchten Fällen schon 10 Minuten nach dem Glycerinaldehydzusatz eine deutliche Abnahme, und im weiteren Verlaufe des Versuchs trat regelmäßig mehr oder weniger ausgesprochene Linksdrehung auf.

Wurde die am Ende des Versuchs erhaltene Flüssigkeit nach der üblichen Eisenfällung während 12—20 Stunden mit Hefe bei 30° vergoren, so trat regelmäßig eine sehr deutliche Zunahme der Linksdrehung ein, während in den Dioxyacetonversuchen die vor der Vergärung vorhandene Rechtsdrehung stets zum völligen oder fast vollständigen Verschwinden gebracht wurde (siehe oben).

Wurde eine solche vergorene Flüssigkeit bei schwach saurer Reaktion im Vakuum eingeengt, und nun mit der Lehmann-Maquenneschen Methode eine Kalt- und eine Heißbestimmung ausgeführt, so war neben einer stets geringfügigen im wesentlichen auf einen Rest von Glycerinaldehyd zu beziehenden Kaltreduktion eine oft beträchtliche Heißreduktion vorhanden.

Brachte man den Glycerinaldehyd am Ende des Durchblutungsversuchs dadurch zum völligen Verschwinden, daß man die Blutflüssigkeit noch etwa eine Stunde bei Bluttemperatur stehen ließ, so war in den vergorenen Filtraten auch jetzt Linksdrehung und oft recht starke Heißreduktion nachweisbar, die Kaltreduktion zeigte nur die minimalen Werte, wie sie verdünnten Hexoselösungen zukommen.

Es lag natürlich nahe, die Linksdrehung und Reduktion auf ein und dieselbe Substanz zurückzuführen, und in der Tat zeigte es sich bald, daß nach völliger Beseitigung des Glycerinaldehyds durch Stehenlassen mit den Blutkörperchen und nach Entfernung des vergärbaren Zuckers durch Hefe die Reduktions- und Polarisationswerte in einem konstanten Verhältnis standen.

<sup>1)</sup> Wir sehen daher davon ab, die Glycerinaldehydversuche in Diagrammen darzustellen.

Berechnet man in den glycerinaldehydfreien, vergorenen Durchblutungsflüssigkeiten aus der beobachteten Linksdrehung und dem Grade der Reduktion die Menge der optisch aktiven und reduzierenden Substanz als Traubenzucker, so findet man nach beiden Methoden übereinstimmende Werte, d. h. das Verhältnis der optischen Aktivität und der Reduktionskraft der in Frage kommenden Substanz ist dasselbe wie bei Traubenzucker.

In einer früheren Untersuchung haben wir dargetan, daß beim Stehen von d-l-Glycerinaldehyd mit gewaschenen Blutkörperchen ein großer Teil des Glycerinaldehyds in Milchsäure umgewandelt wird, wobei überwiegend die für den tierischen Organismus unnatürliche l-Milchsäure auftritt.

Wir glaubten mit großer Wahrscheinlichkeit das Auftreten der l-Komponente der Milchsäure auf die im d-l-Glycerinaldehyd vorhandene «unnatürliche» Komponente zurückführen zu dürfen und gelangten zu der Anschauung, daß die optische Natur des Glycerinaldehyds in unseren Versuchen von bestimmendem Einfluß auf die optische Natur der aus ihm entstehenden Milchsäure sei.

Dementsprechend mußte uns die Beobachtung, daß bei der Durchströmung mit d-l-Glycerinaldehyd eine nicht vergärbare, linksdrehende, in der Wärme reduzierende Substanz aufgetreten war, den Gedanken nahelegen, daß hier ein Zucker vorlag, der als Derivat der unnatürlichen Komponente des Glycerinaldehyds anzusehen wäre.

Die Tatsache, daß das Verhältnis zwischen Linksdrehung und Reduktion das gleiche war, die bei der d-Glukose das Verhältnis zwischen Rechtsdrehung und Reduktion, ließ uns eine Zeitlang in erster Linie daran denken, daß die in Frage kommende Substanz nichts anderes sei als l-Glukose.

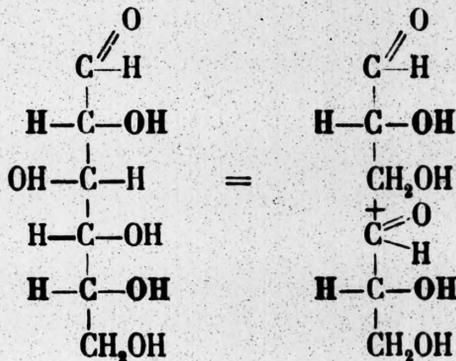
Versuche, aus den glycerinaldehydfreien und vergorenen Flüssigkeiten nach dem Einengen l-Phenylglukosazon zu gewinnen, schlugen aber fehl. Zwar trat eine reichliche Osazonbildung auf, aber die Krystallisation war bei Anwendung der für Phenylglukosazon üblichen Krystallisationsmittel stets eine unvollkommene und das Osazon verhielt sich auch gegenüber Lösungsmitteln anders wie Phenylglukosazon, war z. B. in

heißem Wasser entschieden leichter löslich. Bei der polarimetrischen Untersuchung des Osazons im Pyridin-Alkoholgemisch wurde zudem nicht die für l-Glukosazon zu erwartende Rechtsdrehung, sondern eine schwache Linksdrehung beobachtet.

Wir gelangten schließlich auf ziemlich einfachem Wege zu einem schön krystallisierten und mit Leichtigkeit identifizierbaren Zucker, als wir uns von einigen Überlegungen leiten ließen, die wir hier kurz wiedergeben möchten.

Wenn wirklich das Auftreten des nicht vergärbaren Zuckers durch die Beteiligung der unnatürlichen Komponente des Glycerinaldehyds an einer Zuckersynthese bedingt war, so konnten von vornherein verschiedenartige Zucker entstehen.

In unserer mehrfach erwähnten früheren Untersuchung<sup>1)</sup> gelangten wir, wie bereits oben gesagt, zu der Vorstellung, daß bei seinem Abbau der Traubenzucker zunächst durch Aldoldepolymerisation in zwei Moleküle Glycerinaldehyd von optisch gleicher Beschaffenheit zerfiel nach folgendem Schema:

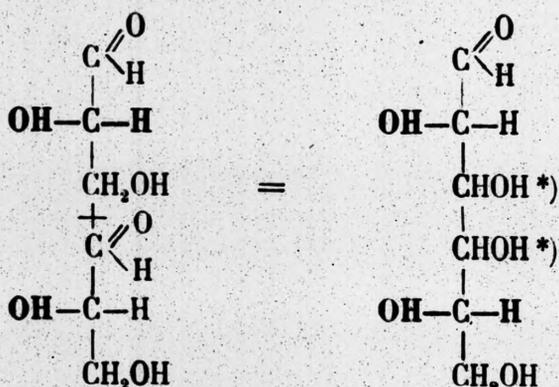


Wenn die Spaltung von Traubenzucker in zwei Moleküle Glycerinaldehyd, wie wir in unserer früheren Untersuchung vermuteten, in der Tat ein reversibler Prozeß ist, die oben formulierte Reaktion also in beiden Richtungen verläuft, so sind bei einer Beteiligung der unnatürlichen Komponente des Glycerinaldehyds an einer Zuckersynthese in erster Linie folgende Möglichkeiten gegeben:

Nehmen wir zunächst an, es würde nach dem obenstehenden Schema eine Aldose aus zwei Molekülen «unnatürlichem» Glycerinaldehyd aufgebaut, so ist die sterische Be-

<sup>1)</sup> Embden, Baldes und Schmitz, l. c., S. 124.

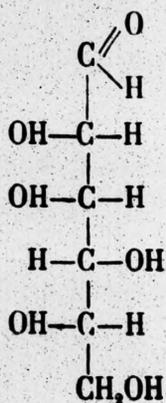
schaffenheit zweier asymmetrischer Kohlenstoffatome dieser Aldose, nämlich der beiden bereits in den zwei Molekülen unnatürlichen l-Glycerinaldehyds vorhandenen, von vornherein gegeben im Sinne folgender Gleichung:



Zwei weitere asymmetrische Kohlenstoffatome, nämlich die mit \*) bezeichneten, gewinnen aber erst ihre sterische Beschaffenheit durch den Vorgang der Aldolkondensation selbst.

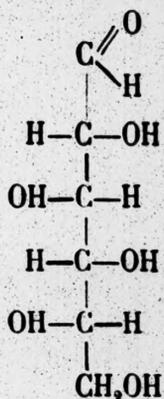
Würde die sterische Anordnung dieser beiden Kohlenstoffatome (etwa unter dem richtenden Einfluß der beiden von vornherein asymmetrischen) die umgekehrte werden, wie in der d-Glukose, so wäre der entstehende Zucker nichts anderes als der optische Antipode der d-Glukose, also l-Glukose. Dieser Zucker kam nach den eben mitgeteilten Tatsachen nicht in Betracht.

Bleibe aber die sterische Anordnung der beiden mit \*) bezeichneten asymmetrischen Kohlenstoffatome die gleiche wie bei der Synthese eines Moleküls d-Glukose aus zwei Molekülen natürlichen Glycerinaldehyds, so würde folgender Zucker entstehen:



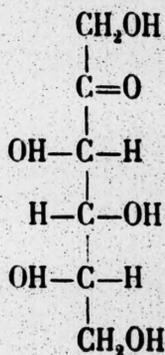
Dieser Zucker ist als d-Gulose bekannt. Würde nach dem gleichen Schema eine unvergärbare Aldose aus einem Molekül

natürlichem<sup>1)</sup> und einem Molekül unnatürlichem Glycerinaldehyd entstehen, so käme ihr folgende Projektionsformel zu:



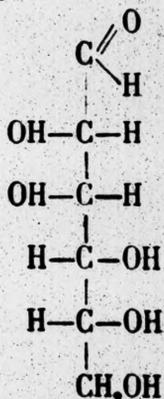
Auch dieser Zucker ist als d-Idose bekannt.<sup>2)</sup>

Die zu den beiden eben genannten Aldosen, d-Gulose und d-Idose, gehörige Ketose ist die d-Sorbose, der folgende Formel zukommt:



<sup>1)</sup> Als natürlichen oder d-Glycerinaldehyd bezeichnen wir im folgenden den durch Aldoldepolymerisation von der d-Glukose sich ableitenden Glycerinaldehyd, dessen optischen Antipoden dementsprechend als unnatürlichen oder l-Glycerinaldehyd.

<sup>2)</sup> Auch die d-Mannose



kann man sich nach dem gleichen Schema aus einem Molekül natürlichen und einem Molekül unnatürlichen Glycerinaldehyd entstanden denken. Doch kommt diese Substanz schon wegen ihrer leichten Vergärbarkeit von vornherein nicht in Betracht.

Dieser Zucker dreht in wässriger Lösung nach links und seine spezifische Drehung beträgt etwa  $\frac{4}{5}$  von derjenigen des Traubenzuckers. Auch das Reduktionsvermögen der d-Sorbose verhält sich zu demjenigen des Traubenzuckers annähernd wie 4 : 5, wie aus den Versuchen von Smith und Tollens<sup>1)</sup> hervorgeht. Das Verhältnis von spezifischer Drehung und Reduktionsvermögen ist bei der Sorbose demnach fast das gleiche wie bei der Glukose. Diese Tatsache im Verein mit den eben angestellten Überlegungen ließ uns nun unser Augenmerk auf das Vorhandensein von d-Sorbose richten.

Ohne weiteres zeigte es sich, daß die enteweißte Durchströmungsflüssigkeit unter den von R. u. O. Adler empfohlenen Kautelen eine intensive Seliwanoffsche Reaktion ergab, was in Durchblutungsversuchen ohne Zusatz nicht der Fall war.

Nunmehr versuchten wir nach der Durchströmung der Leber mit Glycerinaldehyd d-Sorbose aus der Durchblutungsflüssigkeit darzustellen.

Die experimentelle Anordnung dieser Versuche wich insofern etwas von den oben geschilderten ab, als wir sie nicht mit gewaschenen Hundebutkörperchen, sondern mit den leichter zugänglichen gewaschenen Rinderbutkörperchen anstellten. Ferner benutzten wir zur Durchblutung nicht Lebern phloridzinvergifteter Tiere, sondern solche normaler Hunde nach 24-stündigem Hunger.

Die Dauer der Durchströmung mit d-l-Glycerinaldehyd, von dem wir dem Durchblutungsblut stets 10g am Beginne des Versuchs hinzufügten, betrug eine Stunde. Längere Durchblutung schien nämlich zu einem Verlust an bereits gebildetem, nicht vergärbarem Zucker zu führen.

Zur Beseitigung der nach einstündiger Durchströmung im Durchblutungsblut noch vorhandenen Glycerinaldehydreste blieb das Blut eine weitere Stunde bei 40°. Nach dieser Zeit zeigten die mittels der Eisenmethode enteweißten und im Vakuum bei stark saurer Reaktion eingeengten Blutfiltrate eine direkt nicht

---

<sup>1)</sup> R. H. Smith und B. Tollens, Untersuchungen über die Polarisations- und die Oxydationskraft der Sorbose, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 33, S. 1293, 1900.

wahrnehmbare, mit der Lehmann-Maquenneschen Methode aber eben noch feststellbare Reduktion Fehlingscher Lösung bei halbstündiger Einwirkung in der Kälte, wie sich auch schwachen Hexoselösungen zukommt. Spuren von Glycerinaldehyd schienen nach dem positiven Ausfall der Orcinreaktion allerdings auch jetzt noch vorhanden zu sein.

Zur Erzielung einer raschen und vollständigen Vergärung war es erwünscht, an möglichst salzarmen Lösungen zu arbeiten. Um den Zusatz größerer Mengen von Natriumsulfat bei der Anwendung des Eisenverfahrens auf die Durchblutungsflüssigkeit zu vermeiden, verzichteten wir auf die Weiterverarbeitung der Blutkörperchen, die wir mittels einer rasch laufenden Zentrifuge entfernten.

Während der Durchblutung mit Glycerinaldehyd geht stets eine geringe Hämoglobinmenge und wohl auch anderes Eiweiß in die Ringersche Lösung über. Der stark rot gefärbte, nach Wiederholung des Zentrifugierens völlig klare Abguß von den Blutkörperchen konnte aber durch Anwendung relativ geringer Mengen kolloidaler Eisenlösung und einen ganz geringfügigen Zusatz von Natriumsulfat leicht völlig enteiweißt und entfärbt werden.

Vor der Vergärung polarimetrisch untersucht zeigten diese Flüssigkeiten bald Linksdrehung, bald Rechtsdrehung, je nachdem in der glykogenhaltigen Leber die Bildung von d-Glukose oder linksdrehendem Zucker überwog.

Nach der Vergärung, die unter Anwendung geringer Mengen gewöhnlicher Preßhefe während 15—20 Stunden bei 30° vorgenommen wurde, war stets ausgesprochene Linksdrehung vorhanden.

Das Reduktionsvermögen der mit etwas kolloidalem Eisenhydroxyd geklärten Flüssigkeit war nach der Vergärung stets wesentlich geringer als vorher.

Die weitere Verarbeitung der vergorenen und mit kolloidalem Eisenhydroxyd von Hefe befreiten, klaren, farblosen Flüssigkeit geschah in folgender Weise:

Zunächst wurde mit Bleizuckerlösung unter Vermeidung eines größeren Überschusses gefällt. Der ziemlich geringfügige

Niederschlag wurde abgesaugt und nicht weiter berücksichtigt. Das Filtrat vom Bleizuckerniederschlag wurde mit Bleiessig vorsichtig ausgefällt, der Niederschlag nach kurzem Stehen abgesaugt und mit kaltem Wasser gründlich gewaschen.

Das Filtrat vom Bleiessigniederschlag wurde mit Bleiessig und Ammoniak völlig ausgefällt und der Niederschlag nach gründlichem Waschen mit kaltem Wasser genau so wie der Bleiessigniederschlag und in den späteren Versuchen zusammen mit demselben weiter verarbeitet.

Der Bleiessig- und ebenso auch der Bleiessig-Ammoniak-Niederschlag wurden kurze Zeit auf Tontellern getrocknet, dann in der Reibschale fein pulverisiert, mit einigen 100 ccm Wasser angerieben und mit Schwefelwasserstoff in der Kälte zersetzt, wozu stets viele Stunden nötig waren. Schließlich wurde vom Bleisulfid abgesaugt, der Sulfidniederschlag mehrmals mit kaltem Wasser gewaschen, und der Schwefelwasserstoff durch einen Luftstrom entfernt.

Das Waschwasser wurde mit dem Filtrat vereinigt.

Die so gewonnene bleifreie Flüssigkeit enthielt stets nicht ganz unerhebliche Mengen freier Salzsäure, die durch frischgefälltes Silbercarbonat in der Kälte entfernt wurde. Das Filtrat von dem gründlich gewaschenen Silberniederschlag wurde mit Schwefelwasserstoff entsilbert (wobei ein Teil des Silbersulfids in kolloidaler Lösung blieb) und durch einen Luftstrom von Schwefelwasserstoff befreit.

Die Flüssigkeit zeigte nunmehr gegen Congopapier keine saure Reaktion mehr und wurde im Vakuum bei einer 50° nicht übersteigenden Temperatur des Heizwassers auf etwa 10 ccm eingeengt, wobei sich das Silbersulfid in filtrierbarer Form abschied.

Das klare schwach gelblich gefärbte Filtrat von dem geringen Silbersulfidniederschlag wurde durch das Waschwasser des letzteren auf ein bestimmtes kleines Volumen aufgefüllt und zeigte bei der polarimetrischen Untersuchung stets starke Linksdrehung.

In einigen Fällen wurde mit einem Teil der Lösung eine Reduktionsbestimmung nach Lehmann-Maquenne vorge-

nommen. Berechnete man das Ergebnis der polarimetrischen und der titrimetrischen Bestimmung als Traubenzucker, so ergaben die beiden Untersuchungsmethoden praktisch übereinstimmende Werte.

Die Hauptmenge der Flüssigkeit wurde nun wieder im Vakuum bei niedriger Temperatur auf ein ganz kleines Volumen eingeeengt und mit etwa 50 ccm Alkohol von 90% versetzt, wobei ein der Glaswand anhaftender Niederschlag entstand, von dem abgossen wurde. Der Niederschlag löste sich bei wiederholter Behandlung mit warmem Alkohol von 95% nur unvollkommen. Der ungelöst bleibende Anteil reduzierte, in Wasser gelöst, Fehlingsche Lösung nur schwach und wurde nicht weiter verarbeitet. Die alkoholische Lösung wurde im Vakuum auf etwa 30 ccm eingeeengt und vorsichtig bis zur deutlichen Trübung mit Äther versetzt. Die Flüssigkeit blieb verschlossen bei Zimmertemperatur oder im Eisschrank stehen. Stets erfolgte über Nacht eine reichliche Krystallisation. Wenn die Menge der Krystalle nicht mehr zunahm, wurden sie abgesaugt und zunächst mit starkem Alkohol, dann mit Äther gewaschen.

Die harten völlig durchsichtigen Krystalle zeigten unter dem Mikroskop die größte Ähnlichkeit mit d-Sorbosekrystallen. Etwas von der Substanz wurde in wenig Wasser gelöst. Die Lösung reagierte gegen Lackmuspapier neutral, schmeckte süß, reduzierte Fehlingsche Lösung sehr stark und gab eine intensive Reaktion nach Seliwanoff.

Der Schmelzpunkt der Krystalle erwies sich als etwas abhängig von der Geschwindigkeit des Erhitzens.

Bei langsamem Erhitzen schmolz die Substanz ohne Umkrystallisieren um 155°, bei raschem Erhitzen etwa bei 163°, entsprechend den Angaben Alberdas van Ekenstein.

Genau so verhielt sich ein früher käuflich bezogenes d-Sorbosepräparat.

Außer durch den Schmelzpunkt erfolgte die Identifizierung des isolierten Zuckers durch die Bestimmung seiner spezifischen Drehung und durch die Darstellung seines charakteristischen Osazons.

Für die Bestimmung der spezifischen Drehung wurden die aus vier Durchblutungsversuchen gewonnenen Sorbosepräparate miteinander vereinigt und aus wenig heißem Methylalkohol umkrystallisiert. 0,4922 g der trockenen Substanz wurden in annähernd 20 ccm Wasser gelöst.

Gewicht der Lösung 20,4018 g

Spezifisches Gewicht der Lösung bei 20° 1,010 »

$\alpha$  im 2-dm-Rohr bei Natriumlicht und 20°  $-2,06^\circ$   
(+ 0,01), daraus berechneter Wert für

$$[\alpha]_{20}^D = -42,27^\circ$$

während sich bei den vorliegenden Konzentrations- und Temperaturverhältnissen die spezifische Drehung der d-Sorbose zu  $-42,76^\circ$  berechnet.

Die spezifische Drehung der Substanz stimmte also ausreichend mit derjenigen der d-Sorbose überein.

Bei der Darstellung des Osazons gingen wir nach der Vorschrift von Emil Fischer<sup>1)</sup> vor.

Der reine Zucker wurde in 10 Teilen Wasser gelöst und mit 3 Teilen salzsaurem Phenylhydrazin und 5 Teilen krystallisiertem Natriumacetat im siedenden Wasserbade während 12—15 Minuten erhitzt. Bei erheblich längerem Erhitzen im oder auf dem Wasserbade wird die Ausbeute an Rohprodukt nicht wesentlich besser, hingegen die Reinigung schwieriger.

Das sich als hellgelbrotes Öl abscheidende Osazon erstarrte beim Abkühlen krystallinisch. Das gelbrote Produkt wurde mit Äther verrieben, der die Verunreinigungen löste und eine leuchtend gelbgefärbte Substanz zurückließ. Zur Reinigung wurde diese Substanz in möglichst wenig Aceton gelöst und vorsichtig mit Äther versetzt. Das Osazon schied sich nunmehr in Form von sehr feinen gelben vielfach miteinander verfilzten Nadeln ab. Wenn nötig, wurde dieser Reinigungsprozeß an dem so gewonnenen Produkt nochmals vorgenommen. Ein zweimal umkrystallisiertes Präparat zeigte einen Schmelzpunkt von 164° (unkorr.), nachdem es kurz vorher zu sintern begonnen hatte.

<sup>1)</sup> Emil Fischer, Verbindungen des Phenylhydrazins mit den Zuckerarten, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 20, S. 821, 1887.

Dieser Schmelzpunkt stimmt mit dem von Emil Fischer für Phenylsorbose angegebenem überein.

Es kann sonach keinem Zweifel unterliegen, daß der bei der Leberdurchblutung mit d-l-Glycerinaldehyd gebildete unvergärbare Zucker nichts anderes als d-Sorbose war.

Die Bildung von d-Sorbose durch die Tätigkeit des tierischen Organismus wird hiermit zum ersten Male festgestellt.

Wir wollen an dieser Stelle ausdrücklich darauf hinweisen, daß die bei unseren Versuchen benutzte Blutkörperchenaufschwemmung beim Stehen mit Glycerinaldehyd allein keine Spur von Sorbose aus d-l-Glycerinaldehyd bildete, so daß das Auftreten der Sorbose bei der Durchblutung fraglos durch die Tätigkeit der Leber erfolgt. Die aus der optischen Aktivität und dem Reduktionsvermögen der entweißten glycerinaldehydfreien und vergorenen Blutflüssigkeit berechnete Sorbosmenge betrug bis zu etwa 0,07% des künstlichen Serums.

Danach kann während der Durchblutung wohl sicher mehr als 1g Sorbose gebildet werden.

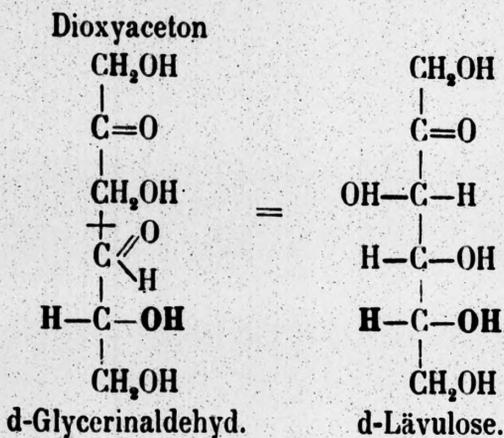
Die aus dem Einzelversuch isolierte Menge war weitaus geringer; sie ging wohl nicht über 0,3g hinaus.

Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß die bei der Leberdurchblutung gebildete d-Sorbose auf synthetischem Wege aus dem dem Durchblutungsblute zugefügten Glycerinaldehyd durch Aldolkondensation entstanden war.

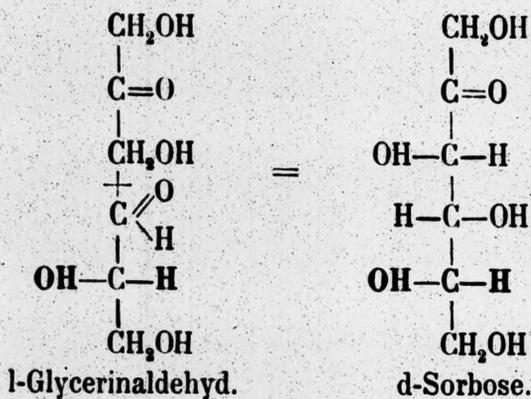
Daß sich aus dem Glycerinaldehyd nicht d-Glukose, sondern die dem tierischen Organismus fremde d-Sorbose bildete, ist unseres Erachtens mit Sicherheit darauf zurückzuführen, daß der angewandte Glycerinaldehyd nicht nur aus der dem tierischen Organismus natürlichen d-Form, sondern auch aus der körperfremden l-Form bestand.

Gerade so, wie allem Anschein nach die Natur der durch Umlagerung aus Glycerinaldehyd gebildeten Milchsäure von der optischen Beschaffenheit des Glycerinaldehyds abhängig ist, wird auch die Art des synthetisch aus Glycerinaldehyd gebildeten Zuckers durch die optische Beschaffenheit des Ausgangsmaterials bestimmt.

Betrachten wir die Konstitutionsformel der d-Lävulose, so können wir uns dieselbe durch Aldolkondensation aus einem Molekül d-Glycerinaldehyd und einem Molekül Dioxyaceton entstanden denken nach nachstehendem Schema:



Die Bildung von d-Sorbose würde in genau der gleichen Weise aus einem Molekül l-Glycerinaldehyd und einem Molekül Dioxyaceton erfolgen nach folgendem Schema:



Die d-Sorbose unterscheidet sich von der d-Lävulose in ihrer Struktur eben nur dadurch, daß an dem fettgedruckten C-Atom Wasserstoff und Hydroxyl in umgekehrter Weise wie bei der d-Lävulose angeordnet sind.

Die Bildung von d-Sorbose aus Glycerinaldehyd beweist also, daß Zuckerbildung aus Glycerinaldehyd erfolgen kann unter Erhaltung der charakteristischen sterischen Anordnung des Glycerinaldehydmoleküls. Würde der Glycerinaldehyd vor seiner Umwandlung in Zucker einen weitgehenden Abbau, etwa zu Glykolaldehyd, erleiden, so wäre es, da der Glykolaldehyd kein asymmetrisches C-Atom besitzt, unverständlich, daß die sterische Konfiguration der aus Glycerinaldehyd ge-

bildeten Hexose von der optischen Beschaffenheit des Glycerinaldehyds abhängt.

Wir dürfen also auf Grund der vorliegenden Versuche mit Sicherheit annehmen, daß der Glycerinaldehyd sich direkt am Zuckeraufbau beteiligen kann, und die von Parnas ausgesprochene und neuerdings auch von Neuberg betonte Anschauung, daß möglicherweise die Zuckerbildung aus Glycerinaldehyd nur auf dem Umwege über Glykolaldehyd erfolgen könnte, besteht sicherlich nicht zu Recht.

Besonderer Besprechung bedarf noch die Tatsache, daß die in unseren Leberdurchblutungsversuchen gewonnene Hexose nicht eine Aldose, sondern eine Ketose ist.

Vielleicht bildet gerade dieses Auftreten von d-Sorbose bei der Leberdurchblutung einen Hinweis darauf, daß auch die d-Glukosesynthese aus natürlichem Glycerinaldehyd unter intermediärer Bildung der der Glukose entsprechenden Ketose, d. h. also von d-Lävulose erfolgt.

Wir würden diese einstweilen keineswegs bewiesene Vorstellung hier nicht äußern, wenn nicht gewisse andere Tatsachen aufs beste mit ihr in Einklang ständen. Seit langer Zeit ist bekannt, daß Lävulose ein ausgezeichnete Glykogenbildner ist, und Glykogen bildet bei seiner hydrolytischen Spaltung mit Säuren nur Traubenzucker.

Namentlich möchten wir an dieser Stelle aber auf noch unveröffentlichte Versuche, die Dr. Isaac im hiesigen Institut ausgeführt hat, hinweisen. Isaac konnte bei der Versuchsanordnung der vorliegenden Arbeit zeigen, daß Lävulose in der künstlich durchströmten Leber außerordentlich rasch in Dextrose umgewandelt wird.

Erfolgt die Bildung der d-Sorbose in der Leber in der oben formulierten Art, d. h. durch Kondensation eines Moleküls Dioxyaceton mit einem Molekül unnatürlichem Glycerinaldehyd, so ist die Annahme notwendig, daß Glycerinaldehyd in der Leber in Dioxyaceton übergehen kann.

Mit der Vorstellung, daß bei der biologischen Synthese des Traubenzuckers intermediär Lävulose auftritt und daß Glycerinaldehyd sich in Dioxyaceton umlagern kann, stimmen

auch die rein chemischen Erfahrungen über Hexosebildung aus Triosen durchaus überein. E. Fischer und Tafel<sup>1)</sup> stellten fest, daß Glycerose bei viertägigem Stehen in 1%iger Natronlauge von 0° ein Hexosegemisch bildete, aus dem zwei verschiedene Osazone, das  $\alpha$ - und  $\beta$ -Phenylacrosazon gewonnen werden konnten.

Der dem  $\alpha$ -Acrosazon zugrunde liegende Zucker konnte bald darauf als d-l-Fruktose erkannt werden,<sup>2)</sup> während die  $\beta$ -Acrose erst in der jüngsten Zeit durch E. Schmitz als d-l-Sorbose identifiziert wurde.<sup>3)</sup>

Fischer und Tafel äußerten bereits die Vorstellung, daß bei der Acrosesynthese intermediär Dioxyaceton auftrete, und ganz in Übereinstimmung damit konnten Wohl und Neuberg<sup>4)</sup> feststellen, daß die Triosen bei der für die Darstellung des Hexosegemisches angewandten Alkalescenz leicht ineinander übergehen: ob sie aldehydfreie Glycerose (Dioxyaceton) oder reinen Glyherinaldehyd als Ausgangsmaterial benutzten, immer erhielten sie das gleiche Kondensationsprodukt, die  $\beta$ -Acrose.

Besonders beweisend für den Übergang von Glycerinaldehyd in Dioxyaceton sind die eben erwähnten Versuche von E. Schmitz, da er die Bildung von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Acrose, d. h. von d-l-Fruktose und d-l-Sorbose aus Glycerinaldehyd bei Hydroxylionenkonzentrationen beobachtete, die weit unterhalb derjenigen liegen, bei denen nach Lobry de Bruyn und Alberda van Ekenstein unter sonst gleichen Bedingungen die Zucker der Hexanreihe deutlich ineinander umgelagert werden.

Auf dem Umwege über Dioxyaceton könnte übrigens l-Glycerinaldehyd in d-Glycerinaldehyd übergehen.<sup>5)</sup> Auch die

<sup>1)</sup> E. Fischer und J. Tafel, Oxydation der mehrwertigen Alkohole. Ber., Bd. 20, S. 1088, 1887.

<sup>2)</sup> Dieselben, Synthetische Versuche in der Zuckergruppe I, daselbst, S. 2566, 1887.

<sup>3)</sup> E. Schmitz, Über den Chemismus der Acrosebildung, Ber. der Deutsch. chem. Ges., Bd. 46, S. 2327, 1913.

<sup>4)</sup> Wohl und C. Neuberg, Ber., Bd. 33, S. 3095, 1900.

<sup>5)</sup> Auf eine andere Möglichkeit des Übergangs von l-Glycerinaldehyd in d-Glycerinaldehyd — nämlich auf dem Umwege über Glycerin — haben wir bereits früher hingewiesen. Embden, Schmitz und Baldes, Biochem. Zeitschr., Bd. 45, S. 174, 1912.

Bildung von natürlichem Traubenzucker aus l-Milchsäure, die neuerdings von Dakin erwiesen wurde,<sup>1)</sup> und allem Anschein nach gerade in die Leber zu verlegen ist, ist vielleicht durch eine primäre Umwandlung von l-Milchsäure in Dioxyaceton erklärbar.

Mit der Vorstellung, daß Dioxyaceton ein Zwischenprodukt beim Zuckeraufbau ist, stimmen nun aufs beste die oben geschilderten Ergebnisse unserer Dioxyacetonversuche überein.

Dioxyaceton erweist sich in der künstlich durchströmten Leber als ein außerordentlich kräftiger Traubenzuckerbildner.

Daß zwei Dioxyacetonmoleküle ohne Änderung ihrer Struktur sich zu einer Hexose kondensieren, erscheint von vornherein als ausgeschlossen. Wir möchten es für bei weitem am wahrscheinlichsten halten, daß mindestens eines der beiden in Betracht kommenden Dioxyacetonmoleküle sich zunächst in Glycerinaldehyd umwandelt und daß dann unter Aldolkondensation in der oben formulierten Weise zunächst d-Lävulose entsteht, die, wie wir eben erwähnten, mit größter Leichtigkeit unter unsern Versuchsbedingungen in d-Glukose übergeht.

Es ist aber natürlich auch möglich, daß zwei Moleküle Dioxyaceton vor ihrer Kondensation miteinander in natürlichen Glycerinaldehyd umgewandelt werden.<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> H. D. Dakin und H. W. Dudley, *Journal of biological chemistry*, Bd. 14, S. 555, 1913. Schon früher wurde der Übergang von dl-Milchsäure in Glukose von Embden und Salomon am pankreaslosen Hunde (*Hofmeisters Beitr.*, Bd. 6, S. 63, 1905) und — in quantitativer Ausbeute — von Mandel und Lusk beim Phloridzindiatetes (*American Journal of Physiology*, Bd. XVI, S. 129, 1906) erwiesen.

<sup>2)</sup> Auf die Möglichkeit einer Umwandlung von Dioxyaceton in Glycerinaldehyd gerade in der Leber haben wir übrigens bereits bei einer früheren Gelegenheit ausdrücklich hingewiesen, als wir unsere Beobachtung mitteilten, daß Dioxyaceton in der künstlich durchströmten Leber ausschließlich natürliche d-Milchsäure bildet, und auch den umgekehrten Vorgang, die Umlagerung von Glycerinaldehyd in Dioxyaceton, haben wir als wahrscheinlich hingestellt (Embden, Baldes und Schmitz, l. c., S. 131 und S. 129). Neuberg gibt dementsprechend unsere Anschauung über diesen Punkt in unvollständiger und irrtümlicher Weise wieder, wenn er meint, daß wir eine «prinzipielle Trennung» der beiden Triosen annehmen (Neuberg, *Biochem. Z.*, Bd. 51, S. 497, 1913).

Dagegen möchten wir es für ausgeschlossen halten, daß der Hauptweg der Zuckersynthese aus Dioxyaceton etwa unter intermediärem Abbau zu Substanzen mit geringerer Kohlenstoffatomzahl insbesondere zu Glykolaldehyd erfolgt.

Wir werden zu dieser Anschauung geführt durch den in einer später zu veröfentlichenden Arbeit erhobenen Befund, daß Glykolaldehyd im Gegensatz zu Glycerinaldehyd und Dioxyaceton unter den von uns gewählten Versuchsbedingungen die Zuckerbildung nicht oder nicht deutlich zu steigern vermag.

#### Zusammenfassung der Ergebnisse:

1. Bei der Durchströmung der durch Phloridzinvergiftung völlig oder annähernd von Glykogen befreiten Hundeleber mit der oben geschilderten Durchströmungsflüssigkeit ohne weiteren Zusatz findet nach Ablauf der ersten halben Stunde nur eine geringfügige und meist ziemlich regelmäßig verlaufende Zuckerbildung statt.

2. Fügt man nach Ablauf einer halben Stunde der Durchströmungsflüssigkeit eine größere Menge Dioxyaceton hinzu, so tritt eine gewaltige Steigerung der Zuckerbildung ein.

Der auftretende Zucker ist offenbar d-Glukose.

3. Bei Zusatz von d-l-Glycerinaldehyd zur Durchströmungsflüssigkeit wird ebenfalls die Zuckerbildung stark gesteigert. Der aus dem Glycerinaldehyd gebildete Zucker ist, zum Teil wenigstens, d-Sorbose.

Wir erblicken in der Bildung von d-Sorbose aus d-l-Glycerinaldehyd einen Beweis dafür, daß Glycerinaldehyd direkt, d. h. ohne vorhergehenden Abbau zu einer kürzeren Kohlenstoffkette und unter Wahrung seiner sterischen Anordnung in Zucker umgewandelt werden kann.

4. Weitaus schwächer als die beiden Triosen bildete Glycerin Traubenzucker.

Allem Anschein nach ist bei unserer Versuchsanordnung die Leber in ihren Funktionen derartig beeinträchtigt, daß sie Zucker nur aus denjenigen Substanzen in erheblicher Menge synthetisiert, die mit ganz besonderer Leichtigkeit Zucker bilden.

Auf die weiteren theoretischen Schlußfolgerungen aus unseren Versuchen können wir hier nicht nochmals eingehen.

Tabelle 5. — Auszug aus den Protokollen der Durchströmungsversuche.

Nr. des Versuchs	Gewicht des Hundes kg	Gewicht der Leber g	Menge der Durchströmungsflüssigkeit ccm	Zusatz zum Durchblutungsblut	Fällung des Blutes
1	6,0	225	2000	Kein Zusatz	Bei jeder Entnahme 70 ccm Blut nach Schenck gefällt.
2	11	250	2200	Kein Zusatz	Je 70 ccm Blut nach Schenck gefällt.
3	5,9	173	2200	30' nach Versuchsbeginn 200 ccm Ringer-Lösung	Je 80 ccm Blut nach Schenck gefällt.
4	7,0	160	2300	Wie in Versuch 3	desgl.
5	5,7	145	2000	desgl.	,
6	6,8	160	1920	,	,
7	12,5	315	2020	,	Fällung von je 80 ccm Blut nach der Eisenmethode.
8	6,5	200	1800	,	Fällung wie im vorigen Versuch.
9	8,0	235	2100	30' nach Versuchsbeginn 6 g Glycerin in 200 ccm Ringer-Lösung.	Fällung von je 80 ccm Blut nach Schenck.
10	8,2	170	2500	30' nach Versuchsbeginn 8 g Glycerin in 200 ccm Ringer-Lösung	desgl.
11	8,7	285	2400	ca. 40' nach Versuchsbeginn 10 g Dioxyaceton in 200 ccm Ringer-Lösung	Eisenmethode
12	7,5	255	2500	30' nach Versuchsbeginn 10 g Dioxyaceton in 200 ccm Ringer-Lösung	desgl.
13	7,0	250	2600	desgl.	,
14	6,0	260	1740	,	,
15	9,2	280	2350	,	,
16	6,0	175	1890	30' nach Versuchsbeginn 10 g d-l-Glycerinaldehyd in 200 ccm Ringer-Lösung	,
17	7,0	240	2200	Wie in Versuch 16	,
18	8,0	220	2000	desgl.	,
19	5,0	170	2800	,	,
20	7,0	245	2600	,	,