

## Om de i Æther opløselige reducerende Stoffer i Blodet og Leveren.

Af

A. Jacobsen.

Gennem et tidligere Arbejde <sup>1)</sup> var det blevet mig klart, at det vilde være nødvendigt nærmere at undersøge de i Blodet forekommende reducerende Stoffer, der ere opløselige i Æther, førend man kunde studere Sukkerets Forhold i den levende dyriske Organisme.

Af den ovenanførte Meddelelse fremgaar, at man ikke faar noget som helst Begreb om Sukkermængdens virkelige Størrelse i Blodet, hvis man nøjes med at bestemme den totale Reduktion i dette, da den Del af Reduktionen, der skyldes de i Æther opløselige Stoffer, stedse er betydelig og overmaade variabel, hvilket vises ved en Sammenligning af Arterie- og Veneblod tagne samtidig fra en Hund.

Her som overalt i det følgende regnes Ætherudtrækkets Reduktion som Druesukkerets.

	Æther- udtræk.	Rest fra Ætherudtræk.	Total Reduktion.	% Opløselig i Æther.
Arterieblod . . . . .	0,043	0,023	0,066	65
Veneblod . . . . .	0,020	0,052	0,072	28

<sup>1)</sup> Ueber die reducirenden Substanzen des Blutes. Centralblatt für Physiologie Bd. VI. 1892—93.

Den Gang syntes det mig at fremgaa af nogle dels kvalitative dels kvantitative Forsøg, at den i Æther opløselige Del af de reducerende Stoffer ikke var gæringsdygtig. Dette Forhold passede dog ikke altid, og det var mig derfor af Vigtighed at faa Sagen undersøgt paa ny, samt ligeledes at undersøge, hvorvidt man ved at behandle Ætherudtrækket med Syre, kunde faa gæringsdygtige reducerende Stoffer. Samtidig udvidedes Undersøgelsen til ogsaa at omfatte Leverens i Æther opløselige reducerende Stoffer.

Fremstillingen af disse foregik efter den af Baldi angivne Fremgangsmaade til Fremstilling af urent Jecorin.

Metoden er i Korthed følgende: Gentagne Alkoholudtrækninger af det med Alkohol fældede Blod eller af den fintrevne Lever. De samlede Alkoholfiltraters Inddampning i Vacuum ved c. 40°, samt Inddampningsrestens Udtrækning med Æther.

Efter at Ætheren er bortdampet, faas en Rest, der i det følgende vil blive kaldet Ætherextraktet af Blod eller Lever.

Ætherextraktet udrives i Vand uden foregaaende Rensninger.

Det var mig i Begyndelsen tvivlsomt, om der forelaa en Opløsning, eller om det blot var en Art Opslemning. Under Mikroskopet viser den, naar den er meget koncentreret, tydelige Myelinformer, der dog snart forsvinde. Da hverken den koncentrerede eller mere fortyndede Opløsning imidlertid ved Centrifugering i 3—4 Timer viste nogen Tilbøjelighed til at blive uhomogen, mener jeg at være berettiget til at betragte den som en Opløsning.

Denne Opløsning er gulhvid til gulbrun og af en egen fad Lugt. Den kaldes i det følgende Opl. I.

Til Opl. I. sættes Svovlsyre, indtil Opløsningen indeholder 2—3% Svovlsyre, hvorpaa der opvarmes c. 10 Minutter paa kogende Vandbad. Herved udskilles næsten øjeblikkelig osteagtige Fnøg, der dog hurtig bage sig sammen til større eller mindre Klumper. Filtreringen fra disse foregaar meget let for

Leverextraktets Vedkommende, medens den undertiden er meget langvarig, ja næsten umulig, naar Extraktet skriver sig fra Blod.

Filtratet er som oftest svagt gulligt, men kan undertiden blive mere brunligt.

Der tilsættes nu en koncentreret Opløsning af Barythydrat til svag alkalisk Reaktion, hvorpaa Væsken gøres svagt sur med Eddikesyre. Filtreringen fra de udskilte Barytsalte er ofte meget besværlig, idet Opløsningen gaar langsomt og uklar igennem Filtret. Den eneste Hjælp herfor synes at være at lade Opløsningen henstaa 12—24 Timer paa et varmt Sted. Skal denne Opløsning, som i det følgende kaldes Opl. III, sammenlignes med Opl. I, maa Barytbundfaldet naturligvis udvaskes meget omhyggeligt.

For at undersøge Gæringsdygtigheden af Opl. I og Opl. III sættes der almindeligt Gær til dem. Denne opslemmes i en større Mængde Vand og nedcentrifugeres, opslemmes atter, og Processen gentages 2—3 Gange. Tilsidst opslemmes de udvaskede Gærceller i en ringe Mængde Vand, og med en Pipette tilsættes  $\frac{1}{2}^{\text{cc}}$  af denne Opslemning til Opl. I og Opl. III. Disse med Gær tilsatte Opløsninger kaldes i det følgende Opl. II og Opl. IV.

Forsøgenes Gang bliver nu følgende.

Ætherextraktet opløses i Vand, og der tilsættes saa meget heraf, at Opløsningen udgør lidt over  $100^{\text{cc}}$ .  $50^{\text{cc}}$  af denne behandles som ovenfor beskrevet med  $H_2SO_4$  og  $Ba(OH)_2$ . Efter Filtrering og omhyggelig Udvaskning deles Opløsningen i 2 ligestore Dele. Disse maa ikke overstige  $35—40^{\text{cc}}$ ; hvis saa er, maa Opløsningen koncentreres.

Til den ene Del sættes Gær (Opl. IV), og sammen med den anden (Opl. III) indsættes de nu i Thermostat. Samtidig indsættes ogsaa  $25^{\text{cc}}$  af den oprindelige Opløsning (Opl. I) og  $25^{\text{cc}}$  af samme +  $\frac{1}{2}^{\text{cc}}$  Gær (Opl. II). Henstanden i Thermostaten

varierer mellem 12 og 24 Timer, og Temperaturen holdes ved c. 30°.

Alle Prøverne udtages samtidig og fortyndes til 50<sup>cc</sup>, hvorpaa Reduktionsevnen bestemmes ved Titrering med Sachsés Væske (en alkalisk Jodkvægsølvjodkaliumopløsning). Titer-væsken er indstillet efter en Opløsning af rent Druesukker (fremstillet paa Gl. Carlsbergs Laboratorium) af bekendt Styrke.

Opløsningernes Reduktionsevne er som tidligere sagt be-regnet, som om den skyldtes Druesukker.

Som det ses af efterfølgende Tabel I, ere Forsøgene ud-førte med Ætherextrakter af Lever, Serum og Blod.

Leverne ere udtagne umiddelbart efter at Dyrene ere blevne dræbte (Nakkestik). Leverne udriyes i en Porcelænsmorter saa fint som muligt, hvorpaa de opslemmes i Alkohol og henstilles i tildækkede Glas. Alle Manipulationer udføres saa hurtigt som muligt, og c. 5 Minutter efter at Dyret er dødt, er Leveren henstillet med Alkohol.

Serum er fremstillet af Oxeblood fra Slagtehusene. Efter at Halsen var overskaaren paa Dyret, lod man Blodet løbe et Øjeblik, hvorpaa Resten opfangedes i steriliserede Centrifuge-glas. Disse henstilledes i Kulden c. 2 Timer, hvorefter Serum fracentrifugeredes.

Denne fældes nu med det 5 dobbelte Volumen Alkohol (94%). Den øvrige Fremgangsmaade er som forhen.

At man ikke kan faa fuldstændig steril Serum paa denne Maade, indser jeg vel, men man undgaar dog herved de værste Kilder til Infektion af Bakterier, der muligvis kunde destruere eller omdanne de reducerende Stoffer under den Henstand, der er nødvendig, for at Blodets Koagulation kan gaa for sig.

Hvad Blodet angaar, er dette fra en i a. carotis eller a. femoralis indlagt Kanyle taget direkte ned i det 5 dobbelte Volumen Alkohol. Derefter er Fremgangsmaaden som før.

Tabel I.

## Forsøg med Leverextrakt.

Forsøgsnummer.	Nr. 1.	Nr. 2.	Nr. 3.	Nr. 4.	Nr. 5.	Nr. 6.
Opl. I . . . . .	0,112	0,189	0,050	0,165	0,204	0,400
Opl. II . . . . .	findes ikke	findes ikke	0,044	0,041	0,077	0,120
Opl. III . . . . .	0,109	0,227	0,053	0,165	0,200	0,396
Opl. IV . . . . .	0,031	0,100	0,022	Spor	0,050	0,060
	Kanin.			Hund.		

## Forsøg med Serumextrakt.

Forsøgsnummer.	Nr. 1.	Nr. 2.	Nr. 3.	Nr. 4.	Nr. 5.	Nr. 6.
Opl. I . . . . .	0,010	0,016	0,027	0,015	0,009	0,009
Opl. II . . . . .	0,009	findes ikke	Spor	Spor	0	0
Opl. III . . . . .	0,020	0,020	0,028	0,015	0,008	0,008
Opl. IV . . . . .	Spor	0,010	Spor	Spor	0	0

## Forsøg med Blodextrakt.

Forsøgsnummer.	Nr. 1.	Nr. 2.	Nr. 3.	Nr. 4.	Nr. 5.	Nr. 6.
Opl. I . . . . .	0,118	0,119	0,075	0,056	0,073	0,027
Opl. II . . . . .	0,048 <sup>1)</sup> 0,042	0,031	0,025	0,008	0,036	0,012
Opl. III . . . . .	0,137	0,146	0,074	0,056	0,073	0,032
Opl. IV . . . . .	0,023	findes ikke	0,010	0,006	0,014	0,012

<sup>1)</sup> Reduktionen var efter 12 Timers Henstand i Thermostat 0,048 efter 36 Timer 0,042.

I Forsøg 6 med Blodextrakt gik en Del Stof tabt ved Filtreringen af Barytsaltene. Opl. III skal altsaa have en større Reduktionsevne.

Sammenligner man i Tabel I Værdierne for Opl. I med Opl. III, finder man, at Reduktionsevnen i nogle Tilfælde er stegen, hvilket særlig er Tilfældet i Forsøgene med Blod. For at forklare dette, er der vel næppe nogen Grund til at antage, at det i Æther opløselige reducerende Stof skulde skifte Reduktionsevne ved at behandles med Syre, men det er rimeligere, at der ved Siden af dette i Blodet og Leveren kan findes et i Æther opløseligt ikke reducerende Stof, som ved at behandles med Syre kan gaa over til et andet, der kan reducere.

For nærmere at undersøge det i Opl. III forekommende reducerende Stof, gik jeg frem paa følgende Maade:

Af 6 Kaninlevere fremstilledes et Ætherextrakt, der behandlede med Svovlsyre og Barythydrat som ovenfor. Opvarmningen med Syre varede dog  $\frac{1}{2}$  Time, og Kolben, hvori den foretoges, var nedsænket i kogende Vand.

Der fældes nu med basisk eddikesurt Blylte. I Filtratet udfældes Overskud af Bly med Svovlbrinte. I Filtratet fra det udskilte Svovlbly uddrives Svovlbrinten ved Gennemledning af Luft.

Opløsningen, der reducerede Fehlings Vædske, var fuldstændig vandklar. Den koncentreredes stærkt i Vakuum ved  $40^{\circ}$ — $45^{\circ}$ , hvorved den antog en ganske svag gullig Tone. Da den undersøgte i Polarisationsapparat, viste det sig, at den drejede Polarisationsplanet til højre. Forholdet mellem Drejnings- og Reduktionsevne blev ikke undersøgt, da Opløsningen skulde anvendes til andet Brug.

Opløsningen inddampes nu som før i Vakuum til Tørhed, hvorved der efterlades en svagt brunlig Rest.

Denne udrystes gentagne Gange med Æther, indtil denne efter Afdampning ikke efterlader nogen Rest. De samlede

Ætherudtræk inddampes til Tørhed, hvorved der efterlades en Rest, som ikke reducerer.

Det ses saaledes, at det reducerende Stof efter Syrebehandling ikke længere er opløseligt i Æther.

Efter Udrystningen med Æther opløses det tilbageblivende i c. 50<sup>o</sup> Vand, og der tilsættes 2,5 Gram Fenyldiazin og 1,4 Gram Iseddike. Opløsningen opvarmes i Reagensglas i kogende Vandbad.

Efter c.  $\frac{1}{2}$  Times Forløb udskiller der sig gulbrune Krystaller. Opløsningen afkøles, og der udskiller sig endnu flere Krystaller.

Under Mikroskopet vise disse sig at bestaa af Knipper af Naale, hvori der hænger smaa tjæreagtige Partikler. Krystallerne frafiltreres, og Opvarmningen gentages. Herved udskiller der sig atter flere Krystaller, som efter Afkøling frafiltreres, hvorpaa Processen gentages endnu en Gang.

De samlede Krystaller opløses i den mindst mulige Mængde kogende Alkohol; Opløsningen filtreres, og der tilsættes c. 25% destilleret Vand af 30<sup>o</sup>—40<sup>o</sup>. Der udskiller sig nu Krystaller, som atter omkrystalliseres paa samme Maade.

Krystallernes Smeltepunkt bestemtes til 200<sup>o</sup>—202<sup>o</sup>, men ved næste Omkrystallisation steg Smeltepunktet til 204<sup>o</sup>—205<sup>o</sup>, hvilket forblev konstant, selv efter at der yderligere var foretaget 2 Omkrystallisationer.

Paa samme Maade fremstilledes en Osazon af Ætherextraktet fra Blod.

Hertil anvendtes c. 1500<sup>o</sup> Hundeblood.

Opvarmningen paa Vandbad med Svovlsyre varede imidlertid kun  $\frac{1}{4}$  Time, da Opløsningen paa dette Tidspunkt blev brunrød, og de udskilte Klumper atter begyndte at opløses. Farven tabte sig fuldstændig efter Fældningen med basisk eddikesurt Blylte.

Filtratet fra Svovlblyet inddampedes ikke til Tørhed, men koncentreredes stærkt, hvorpaa der tilsattes Fenyldiazin og Is-

eddike. Jeg fik nu en Osazon, hvis Smeltepunkt forblev konstant ved  $204^{\circ}$ — $206^{\circ}$ .

Der kan altsaa af det i Æther opløselige reducerende Stof fremstilles et andet, der ligeledes reducerer, der er uopløseligt i Æther, der (se Tabel I) er gæringsdygtigt, drejer Polarisationsplanet til højre og med Fenyldiazin danner en Osazon, der smelter ved  $204^{\circ}$ — $206^{\circ}$ .

Der er derfor al Rimelighed for at antage, at dette Stof er Glucose.

Hvorvidt der ved Siden af dette findes andre reducerende Stoffer, skal jeg gaa lidt nærmere ind paa, naar jeg har omtalt mine Gæringsforsøg. Inden jeg gaar over til disse, vil jeg kortelig omtale en Iagttagelse af Bleile <sup>1)</sup>, der viser, at ogsaa han har set, at Blodets Reduktionsevne kan stige ved Syrebehandling.

Han siger nemlig, at han, ved at koge Serum fra v. porta paa en Hund paa Kulhydratdiæt med Svovlsyre, saa Reduktionsevnen stige fra 0,375% til 0,500%, uden at det var ham muligt i Serum at paavise Dextrin.

Denne Stigning i Reduktionsevnen kunde jo muligvis tilskrives Glycogen, dyrisk Gummi eller lignende, men der er lige saa stor Rimelighed for at antage, at den skriver sig fra det i Æther opløselige Stof, der ved Opvarmningen med Syre kan reducere.

Betragte vi nu Reduktionsevnen i Opløsningerne II og IV, ses, at den stedse er mindre end i de tilsvarende Opløsninger I og III. Der er altsaa baade i Opl. II og Opl. IV afgæret noget reducerende Stof, men der er dog en tydelig Forskel i de bortgærede Mængder, idet Opl. II (naar undtages Serumforsøgene og Blodforsøg Nr. 4) stadig reducerer kraftigere end den tilsvarende Opløsning IV.

Dette Forhold belyses nærmere i nedenstaaende Tabel II,

<sup>1)</sup> Ueber den Zuckergehalt des Blutes. Archiv für Anatomie und Physiologie. 1875.



der indeholder de Forsøg med Lever og Blod, hvor Sammenligning overhovedet er mulig.

Forsøgene i Tabel I Nr. 2, Nr. 3, Nr. 4, Nr. 5 med Serum viser derimod, at der ingen Forskel er i Gæringsevnen i Opløsningen II og IV. Der er en Mulighed for, at dette Fænomen skyldes den Tid, der medgaar, inden Serum kan tages i Arbejde. Hvis dette er Tilfældet, vilde man kunne vente at se det samme ved Blod, der havde staaet en lignende Tid hen. Jeg har ikke undersøgt denne Sag, da den ikke direkte vedrører de reducerende Stoffer i den levende dyriske Organisme, men langt snarere hører hen til en Undersøgelse over Glycolyse.

Tabel II.

	Forsøgsnummer.	Svind ved Gæring før Syrebehandling.	Svind ved Gæring efter Syrebehandling.	Differens.
Lever.	Nr. 3 . . .	14 %	56 %	42 %
	Nr. 4 . . .	75 %	75 %	se Tab. I
	Nr. 5 . . .	62 %	> 75 %	13 %
	Nr. 6 . . .	70 %	85 %	15 %
Blod.	Nr. 1 . . .	59 %	81 %	22 %
	Nr. 3 . . .	67 %	87 %	20 %
	Nr. 4 . . .	86 %	89 %	3 %
	Nr. 5 . . .	51 %	81 %	30 %

For at opnaa en Forstaaelse af den Gæring, der foregaar i Opl. II, prøvede jeg, hvorvidt Invertinmængden i den tilsatte Gær spillede nogen Rolle.

Forsøget anstilledes paa følgende Maade:

Det i Vand opløste Ætherextrakt deltes i 4 Dele a, b, c og d.

a er Opløsningen selv.

b er a med Tilsætning af Gær<sup>1)</sup>.

Til to Portioner a sættes ligestore Mængder af et vandigt Gærudtræk. Dette reducerede ikke, indeholdt enkelte Gærceller og inverterede Rørsukker.

<sup>1)</sup> Denne Tilsætning sker først samtidig med, at der tilsættes Gær til d.

Disse 2 Portioner henstilles i Thermostat i 2 Timer ved 30°. Til den ene (d) sættes samme Mængde Gær, som er anvendt i b, og den anden Portion c lades uforandret.

Alle Portionerne henstaa nu 12 Timer i Thermostat.

Ved Titring fandtes da:

a . . . . .	0,400 ‰	} Svind 70 ‰.
b . . . . .	0,120 ‰	
c . . . . .	0,326 ‰	} Svind 70 ‰.
d . . . . .	0,096 ‰	

Det ses heraf, at Svindet mellem a og b paa den ene Side og c og d paa den anden procentisk er ens. Svindet mellem a og c (d) skyldes rimeligvis de Gærceller, der fandtes i Gærudtrækket.

Det synes altsaa, som om Invertinets Mængde ikke spiller nogen Rolle ved Gæringen.

Der var derimod stor Sandsynlighed for, at Gæringen ikke var færdig, naar Titringen foretoges.

At dette virkelig er Tilfældet, ses i Blodforsøg Nr. 1, hvor Opl. II efter 12 Timers Forløb giver 0,048 ‰, medens en analog Prøve, der henstod 36 Timer, gik ned til 0,042 ‰. Da den tilsvarende Opl. I imidlertid giver 0,118 ‰, fremgaar det tydeligt, at Gæringen i dette Forsøg for en langt overvejende Del er foregaaet i den første Tid.

For nærmere at undersøge dette, deltes en vandig Opløsning af Ætherekstraktet fra en Hundelever i 5 ligestore Dele.

Der sættes samme Mængde Gær til dem alle. Titringen foretoges nu

strax —	Opløsningen viste	0,093 ‰.
efter 6	Timers Forløb . .	0,035 -
— 10 <sup>1/2</sup>	— — . .	0,033 -
— 24	— — . .	0,029 -
— 50	— — . .	0,020 -

Af dette Forsøg fremgaar ogsaa, at Gæringen foregaar langt kraftigere i Begyndelsen end senere.

Jeg har gentagne Gange forsøgt, om det var muligt i

Opl. II at bortgære hele Mængden af reducerende Stof; men dette er først forsvundet efter 4—6 Døgns Forløb, og Opløsningen havde da faaet en Lugt, som tydelig viste, at der var indtraadt Forraadnelse.

Hvad angaar Opl. IV, saa foregaar Gæringen vel hurtigere i denne, men heller ikke her lykkedes det mig ved den Behandlingsmaade, jeg hidtil havde anvendt, at bortgære hele den reducerende Stofmængde, førend der samtidig indtraadte en Forraadnelse.

Man kunde muligvis heraf slutte, at der sammen med det gæringsdygtige reducerende Stof fandtes ét, der vel reducerede, men ikke var gæringsdygtigt.

Jeg tror nu imidlertid ikke det er Tilfældet; thi da jeg i 2 Forsøg (1 Hunde- og 2 Kaninleverer) fortsatte Syrebehandlingen af Ætherextraktet længere ( $\frac{1}{2}$  Time) og i en Kolbe, der var helt nedsænket i kogende Vand, fik jeg en Opløsning, som efter 18 Timers Henstand med Gær ikke gav Reduktion med Fehlings Væske og kun et yderst svagt Spor med Sachs'es.

Der er derfor al Grund til at tro, at Syrebehandlingen i de foregaaende Forsøg ikke har været energisk nok, saa at Fraspaltningen af Glucosen kun har været ufuldstændig.

At Opl. II kan gære, tror jeg skyldes, at Gæren selv fraspalter Glucose og derpaa yderligere spalter dette. (Ved denne Spaltning har jeg gentagne Gange set, at der dannes  $CO_2$ .) Efterhaanden blive Gærens Virkninger svagere, rimeligvis fordi Næringsvæsken da er bleven mindre gunstig, og tilsidst ophører Virkningen fuldstændig.

Gæringsresten i Opl. IV vilde være at forklare ganske paa samme Maade.

Hvis man skulde sammenligne det i Æther opløselige reducerende Stof med andre, maatte disse vel nærmest søges mellem Stoffer som Cerebrinerne, Glycoproteider og lignende, der ved

Syrebehandling kan spaltes i et reducerende Stof og i et eller flere, der ikke kan reducere.

Tage vi til Sammenligning det af Hammarsten <sup>1)</sup> undersøgte Pankreasproteid, saa reducerer det ikke i og for sig, men giver ved Kogning med Syre et reducerende Stof, der dog ikke er Glucose. Imidlertid ved jeg efter en mundtlig Meddelelse af Prof. Hammarsten, og har selv i hans Laboratorium prøvet, at Proteidet spaltes ved Opvarmning med Natronhydrat, saaledes at der dannes en mindre sammensat Forbindelse, der indeholder det reducerende Stof, medens en Del (Albumin) gaar i Opløsning.

Det forekommer mig i Analogi hermed som en Mulighed, at der ved Kogning af det i Æther opløselige reducerende Stof med Fehlings Væske foregaar en Spaltning ved Alkaliets Hjælp, og at denne er saa dyb, at Kulhydratet bliver frit og derpaa virker reducerende.

---

<sup>1)</sup> Zeitschrift für physiologische Chemie. Bd. 19.