

# Die Kohlehydrate des Serumglobulins

(I. Mitteilung)

von

Dr. med. et phil. **Leo Langstein** aus Wien.

Ausgeführt mit Subvention der kais. Akad. der Wiss. zu Wien.

Aus der med. Klinik in Basel (Vorsteher: Prof. Friedrich Müller).

(Vorgelegt in der Sitzung am 7. Mai 1903.)

Bei der Durchsicht der großen Reihe vorliegender Untersuchungen, die sich mit der Erforschung der Kohlehydratgruppen verschiedener Eiweißkörper befassen, fällt die mangelhafte Übereinstimmung der Versuchsergebnisse, zu denen die einzelnen Forscher gelangten, in wenig erfreulicher Weise auf. Daß diese Unsicherheit, der wir bei der chemischen Bearbeitung der Zuckereiweißfrage begegnen, von einer verhängnisvollen Rückwirkung auf den biologischen Teil des Problems sein mußte, leuchtet ohneweiters ein.

Erst als die letzten Jahre durch eine einwandfreie Methodik die Identifikation desjenigen Kohlehydrates brachten, das ein weit verbreiteter Paarling des Eiweißmoleküls zu sein scheint, wurde die den früheren Untersuchungen anhaftende Unsicherheit verständlicher. Sie liegt begründet in den chemischen Eigenschaften dieses Eiweißzuckers. Der aus den bisher untersuchten Proteinsubstanzen abgespaltene Kohlehydratkomplex ist nämlich, wenn wir von den Nucleoproteiden absehen, keine einfache Hexose, sondern ein Aminozucker, das gleiche Kohlehydrat, welches Ledderhose<sup>1</sup> durch Spaltung des Chitins mit konzentrierter Salzsäure erhielt und als Glukosamin bezeichnete.

---

<sup>1</sup> Ledderhose, Über Glykosamin. Inauguraldissertation. Straßburg, 1880. — Über Chitin und seine Spaltungsprodukte; Zeitschrift für physiol. Chemie, 2, 213 und 4, 139.

Da sich die Mehrzahl der physiologischen Chemiker zum Zwecke des Nachweises eines Kohlehydrates im Eiweißmolekül mit der Darstellung von Osazonen begnügte, die Bildung des Glukosazons aus Glukosamin aber viel schwieriger und dementsprechend langsamer erfolgt als aus Glukose, Lävulose und Mannose — eine Beobachtung, die Tiemann<sup>1</sup> gemacht und Friedrich Müller<sup>2</sup> bestätigt hat — ist es nicht weiter verwunderlich, daß positiven Befunden von Osazonen, dargestellt aus der Lösung der Spaltungsprodukte verschiedenartigster Eiweißkörper, ebensoviele negative gegenüberstehen. Um ein Beispiel anzuführen, sei daran erinnert, daß Krawkow<sup>3</sup> in einem der kohlehydratreichsten Eiweißkörper, dem Ovomukoid, bei seiner Untersuchung ein Kohlehydrat vermißte.

Bei Inangriffnahme vorliegender Arbeit war mir nur ein einziger Proteinstoff bekannt, dessen Untersuchung zum Zwecke des Nachweises eines Kohlehydratpaarlings ausnahmslos positive Resultate zeitigte: das Serumglobulin. Diese Tatsache rief in mir die Vermutung wach, es beteilige sich am Aufbau des Blutglobulins nicht Glukosamin, sondern eine andere Hexose, aus der sich das Osazon leichter und schneller bilde als aus jenem. Sie regte mich zu der hier mitzuteilenden Untersuchung an, die ich im Laboratorium der medizinischen Klinik in Basel bei meinem hochverehrten Lehrer, Prof. Friedrich Müller, ausführte, nachdem mir die hohe kaiserliche Akademie der Wissenschaften zu Wien in dankenswerter Weise die Mittel zur Verfügung gestellt hatte.

## I.

In den Kreis seiner umfassenden Untersuchungen über die Kohlehydrate der Proteine hat Pavy<sup>4</sup> auch die Bluteiweißkörper gezogen. Es gelang ihm, durch kombinierte Spaltung derselben mit Alkali und Säure eine Substanz darzustellen, die

<sup>1</sup> Tiemann, Ber. der Deutschen chem. Gesellsch., 17, 241 und 19, 49 und 1258.

<sup>2</sup> Friedrich Müller, Beiträge zur Kenntnis des Mucins und einiger damit verwandter Eiweißstoffe. Zeitschrift für Biol., 42, 468.

<sup>3</sup> Krawkow, Über die Kohlehydratgruppe im Eiweißmolekül. Pflüger's Archiv, 65, 281.

<sup>4</sup> Pavy, Physiology of the Carbohydrates. London, Churchill 1894.

Fehling'sche Lösung reduzierte und mit salzsaurem Phenylhydrazin und Natriumacetat in der für Kohlehydrate charakteristischen Weise reagierte. Wenn auch — im Hinblick auf spätere Untersuchungen — die Wahrscheinlichkeit besteht, daß der Zucker, den Pavy in der Hand hatte, Spaltungsprodukt des Serumglobulins war, müssen wir doch K. A. H. Mörner<sup>1</sup> gerechterweise das Verdienst zuschreiben, zuerst den einwandfreien Nachweis einer Kohlehydratgruppe in diesem Eiweißkörper geführt zu haben. Denn während Pavy mit dem Gemenge sämtlicher Serumeiweißkörper operierte, das möglicherweise noch durch Substanzen von Kohlehydratcharakter verunreinigt war, ging K. A. H. Mörner bei seiner Untersuchung von sorgfältig gereinigtem Blutglobulin aus. Er fällte es entweder durch Verdünnen mit Wasser nach Zusatz von Essigsäure aus dem Serum aus oder stellte es durch Sättigung desselben mit Magnesiumsulfat nach Hammarsten's<sup>2</sup> Methode dar. In beiden Fällen reinigte er es durch wiederholtes Lösen und Füllen. Beim Erwärmen desselben mit drei- bis fünfprozentiger Salzsäure auf dem Wasserbade gelang es Mörner, reduzierende Substanz abzuspalten. Ebenso wie nicht koaguliertes, nur durch wiederholtes Umfällen gereinigtes Globulin verhielt sich koaguliertes, mit Alkohol und Äther erschöpftes; auch bestand kein Unterschied, ob nun Globulin aus Pferdeblut oder aus menschlichem Serum zur Verwendung kam.

Durch Erhitzen mit Wasser gelang es Mörner, aus dem Globulin die Muttersubstanz des reduzierenden Zuckers abzuspalten. Dieselbe stellte eine gummiartige Masse dar, die keine Eiweißreaktion gab, jedoch einen erheblichen Stickstoffgehalt besaß. Ihre Lösung drehte schwach links, bot keine deutliche Pentosenreaktion, reduzierte nicht und gab kein Osazon. Letztere beiden Eigenschaften gewann sie jedoch nach Spaltung mit Säure. Das aus heißem Wasser gereinigte Osazon krystallisierte in zu Garben vereinigten Nadeln, die bei 170 bis 172° schmolzen.

---

<sup>1</sup> K. A. H. Mörner, Reduzierende Substanz aus dem Globulin des Blutsersums. *Zentralblatt für Physiol.*, 7, 581.

<sup>2</sup> Hammarsten, *Archiv für die ges. Physiol.*, 17, 413 und 18, 38 und 22, 4, 31.

Dem Befunde von Mörner gab Eichholz<sup>1</sup> eine andere Deutung. Er meint, daß das von jenem dargestellte, durch sein Osazon charakterisierte Kohlehydrat nicht Spaltungsprodukt des Serumglobulins, sondern eines mit jenem ausgefallenen Mucinstoffes sei, und begründet diese Meinung durch das Ergebnis seiner im folgenden angeführten Versuche: Es gelingt, durch Verdünnung des Blutserums vom Pferde im Verhältnis 10:200 und nachträglichen Zusatz von zwei Tropfen dreiprozentiger Essigsäure die Abscheidung eines Eiweißkörpers in Form kleinster Flöckchen zu erzielen, die sich in einem Überschuß von Essigsäure sofort lösen.

Aus diesem Proteinstoff — Eichholz bezeichnet ihn als Mucinsubstanz — lassen sich ziemlich reichliche Mengen von Kohlehydrat abspalten, und die Ausbeute an Osazon ist keine unbedeutende. Es gelingt jedoch nicht, aus einem Globulin, das aus dem Filtrat von der durch Zusatz von Essigsäure und Verdünnung des Serums mit Wasser hervorgerufenen Fällung dargestellt war, Osazon zu gewinnen.

Das von Eichholz aus dem sogenannten Mucinstoff dargestellte Osazon schmolz bei 204 bis 205°.

Als Stütze für die Ansicht von Eichholz konnte eine Mitteilung von Zanetti<sup>2</sup> über ein neues Glykoproteid des Blutserums gelten, das in seinem physikalischen und chemischen Verhalten dem Ovomukoid entsprach und aus dem Blutserum auf dieselbe Weise hergestellt war wie jenes aus dem Eiklar: Koagulation des Serumglobulins und Serumalbumins durch Erhitzen und Ausfällung durch Alkohol aus dem konzentrierten Filtrat dieser Eiweißkörper.

Nach Zanetti ist dieses Blutmukoid durch großen Kohlehydratgehalt ausgezeichnet.

K. A. H. Mörner<sup>3</sup> hat in einer großangelegten Arbeit zu den Untersuchungen von Eichholz und Zanetti Stellung genommen. Gegen die Beweiskraft derselben führt er folgendes

<sup>1</sup> Eichholz, The hydrolysis of proteids. Journ. of physiol. 23, 163.

<sup>2</sup> Zanetti, Sull'ovimucoidi e sopra un nuovo Glucoproteide di contenute nel siero di sangue. Annal. di Chim. e Farmac. 1897, 12.

<sup>3</sup> K. A. H. Mörner, Zur Kenntnis der Bindung des Schwefels in den Proteinstoffen. Zeitschrift für physiol. Chemie, 34, 207.

an: Daß Eichholz aus seinem von dem »Mucinstoff« befreiten Globulin kein Osazon erhielt, ist möglicherweise durch seine Arbeitsmethode bedingt. Eichholz hat Globulin (38 g) in 20prozentiger Kalilauge gelöst und nach Zusatz des gleichen Volumens Wasser eine Stunde am Rückflußkühler gekocht. Dabei kann jedoch reduzierende Substanz zerstört werden, so daß der nicht gelungene Nachweis eines Kohlehydrates nicht in dem Sinne verwertet werden kann, daß gereinigtes Globulin keinen abspaltbaren Zucker enthält.

In die Präexistenz des von Zanetti beschriebenen Mukoids setzt Mörner Zweifel, da er die Möglichkeit nicht für ausgeschlossen hält, daß sich dasselbe aus dem Globulin beim Erhitzen des Serums sekundär gebildet habe.

Außer den theoretischen Bedenken, die Mörner gegenüber den Untersuchungen von Eichholz und Zanetti äußert, führt er Tatsachen an, die den glykoproteidischen Charakter des Blutglobulins außer Zweifel setzen. Er hat nämlich aus diesem reduzierende Substanzen darstellen können, unabhängig von der Methode, nach welcher das Globulin aus dem Serum abgetrennt war. Ebenso der durch Sättigung mit Chlor-natrium fällbare wie der nicht fällbare Teil des Blutglobulins gaben bei geeigneter Behandlung reduzierende Substanz ab. Es bestand in dieser Hinsicht auch kein Unterschied, ob der durch Dialyse ausfällbare Anteil oder das sogenannte wasserlösliche Globulin als Ausgangsmaterial diente, und eine fraktionierte Verarbeitung des durch Magnesiumsulfat ausgesalzene Eiweißkörpers zeitigte die gleichen Resultate.

Es sei mir gestattet, einiges hinzuzufügen, was als Beleg für die Richtigkeit der Anschauungen Mörner's dienen kann. Daß die Ergebnisse der Alkalisplaltung eines Eiweißkörpers nur mit Vorsicht für den Nachweis eines Kohlehydrates zu verwerten sind, geht aus meinen<sup>1</sup> Versuchen am krystallisierten Serumalbumin hervor. Durch kombinierte Alkalisäuresplaltung gelang der Nachweis des Glukosamins in diesem Eiweißkörper. Dieser mißlang jedoch, wenn die Kalilauge etwas länger, als

---

<sup>1</sup> Langstein, Die Kohlehydrate des krystallisierten Serumalbumins. Beitr. zur chem. Physiol. und Pathol., 1, 259.

zur Aufschließung des Eiweißmoleküls erforderlich, eingewirkt hatte.

Es geht ferner nicht an, auf die äußerliche Eigenschaft der Fällbarkeit durch Essigsäure hin einen Eiweißkörper als Mucin zu bezeichnen, wie dies Eichholz tut. Gerade diese Eigenschaft teilen manche Globuline mit den Mucinen — ich erinnere an den von Stähelin,<sup>1</sup> Umber u. a. untersuchten, durch Essigsäure fällbaren Eiweißkörper in Exsudaten, dessen Globulinnatur heute fast von allen Autoren anerkannt ist. Die Löslichkeit in einem Überschuß von Essigsäure, die dem Glykoproteid von Eichholz zukommt, spricht direkt gegen dessen Mucincharakter.

Eigene Untersuchungen<sup>2</sup> über das von Zanetti entdeckte Mukoid lehren, daß wir es nicht mit einer wohl charakterisierten einheitlichen Substanz zu tun haben, sondern mit einem Gemenge von Eiweißkörpern, die wir nach dem heutigen Stande unseres Wissens wohl als Albumosen bezeichnen müssen. Ob sich der reichliche Kohlehydratgehalt derselben, den Zanetti feststellte, dadurch erklärt, daß wir es mit Glykoalbumosen im Sinne E. P. Pick's<sup>3</sup> zu tun haben, oder ob er von beigemengtem, von Freund<sup>4</sup> im Blut nachgewiesenem tierischen Gummi herührt, muß vorläufig dahingestellt bleiben.

Zur genaueren Charakterisierung des Globulinzuckers, über dessen chemische Natur sich auf Grund der im vorhergehenden mitgeteilten Befunde nichts aussagen läßt, können Befunde dienen, die ich<sup>5</sup> beim Studium der durch langwährende peptische Verdauung der Serumeiweißkörper entstandenen Endprodukte in Hofmeister's Laboratorium erhoben habe.

Es ließ sich nämlich aus der Lösung der Verdauungsprodukte durch Fraktionierung mit Alkohol und Fällung mit

---

<sup>1</sup> Stähelin, Münchener medizinische Wochenschrift, 1902.

<sup>2</sup> Langstein, Über das Vorkommen von Albumosen im Blute. Beitr. zur chem. Physiol. und Pathol., III, 373.

<sup>3</sup> E. P. Pick, Zur Kenntnis der peptischen Spaltungsprodukte des Fibrins. II. Die sogenannten Deuteroalbumosen. Beitr. zur chem. Physiol., II, 481.

<sup>4</sup> Freund, Zentralblatt für Physiol., 1892, 345.

<sup>5</sup> L. Langstein, Zur Kenntnis der Endprodukte der peptischen Verdauung. Beitr. zur chem. Physiol. und Pathol., I, 507.

ammoniakalischem Blei ein Körper isolieren, der eine auffallend starke Reaktion nach Molisch gab, keine Pentosenreaktion zeigte und nativ-Fehling'sche Lösung nur andeutungsweise reduzierte. Durch wiederholtes Lösen und Fällern mit Alkohol ließ sich die Substanz reinigen und konnte schließlich in Form weißer Flocken erhalten werden, die äußerst hygroskopisch waren und an der Luft sofort zu einer braunen Schmiere zerflossen.

Die Analyse der von Biurettreaktion gebenden Körpern vollständig gereinigten Substanz, die sich bei 170° zersetzte, ergab folgende Werte:

0.1772 g Substanz enthielten 42.28% C und 7.36% H.

0.149 g Substanz enthielten 8.33% N (Dumas).

In 100 Teilen:

	Berechnet für $C_{12}H_{24}N_2O_9$	Gefunden
C .....	42.34	42.28
H .....	7.59	7.36
N .....	8.23	8.33

»Bei der Spaltung der Substanz mit konzentrierter Salzsäure erhielt ich einen stark Fehling'sche Lösung reduzierenden Körper, der ein typisches Osazon vom Aussehen und Schmelzpunkt des Glukosazons gab (204 bis 205°). Bei der Benzoylierung konnte ein krystallinisches Produkt erhalten werden, das jedoch in seinen Eigenschaften keine Übereinstimmung mit Benzoylglukosamin zeigte.«

Es unterlag keinem Zweifel, daß der polymere Kohlehydratkomplex Spaltungsprodukt des Blutglobulins war, aus dessen Molekül er durch die langwährende peptische Verdauung losgelöst wurde.

Seinen physikalischen Eigenschaften nach stimmte er nicht nur vollkommen mit dem von Mörner nach einer anderen Methode aus diesem Eiweißkörper dargestellten Polysaccharid überein, er zeigte auch in seinen Analysenwerten die weitgehendste Ähnlichkeit mit dem von S. Fränkel<sup>1</sup> durch Baryt-

<sup>1</sup> S. Fränkel, Über die Spaltungsprodukte des Eiweißes bei der Verdauung. II. Mitteilung: Über die Reindarstellung der sogenannten Kohlehydrat-

spaltung aus Ovalbumin dargestellten »Albumin«, das dieser Forscher als ein Dihexosamin auffaßt. Andererseits ist diesem gegenüber ein prinzipieller Unterschied dadurch gegeben, daß die reduzierende Grundsubstanz nicht Glukosamin ist, sondern eine andere Hexose, die mit dem Glukosamin nur das gleiche Osazon gemein hat. Diese Hexose ist ferner, wie aus meinen Untersuchungen über die peptische Spaltung der Serumeiweißkörper hervorgeht, durch die Einwirkung der peptischen Fermente aus ihrer Muttersubstanz absapftbar, während sich das Albumin nach S. Fränkel's Versuchen in dieser Richtung resistent erweist.

In dieser ersten Mitteilung soll über die Ergebnisse meiner Untersuchungen der reduzierenden Monose berichtet werden. Eine bald folgende weitere wird die Untersuchung des polymeren Kohlehydrates wie die der physiologischen Bedeutung der hier mitgeteilten chemischen Befunde zum Gegenstande haben.

## II.

Als Ausgangsmaterial diente Globulin aus Pferdeblutserum, das nach Pohl's<sup>1</sup> Methode durch Halbsättigung mit einer neutralen gesättigten Ammonsulfatlösung gewonnen und durch einmaliges Umfällen von etwa anhaftendem Serumalbumin befreit wurde. Für die Spaltungsversuche wurde es in folgender Weise präpariert. Der abgepreßte feuchte Eiweißkuchen wurde durch Eintragen in durch Essigsäure angesäuertes siedendes Wasser koaguliert und bis zur fast vollständigen Schwefelsäurefreiheit tagelang mit heißem Wasser gewaschen. Daran schloß sich Extraktion mit Alkohol und Äther, Trocknung bei 100° und Pulverisierung bis zur Staubfeinheit. Eine derartige Reinigung ist notwendig, um sicher zu sein, daß sämtliche Substanzen von Kohlehydratcharakter, an denen das Blut ja so reich ist, entfernt sind. Davon, daß dies tatsächlich der Fall

---

gruppe des Eiweißes. Sitzungsber. der kaiserl. Akademie der Wissenschaften, mathem.-naturw. Kl., Bd. 1071, Abt. II b.

<sup>1</sup> Pohl, Ein neues Verfahren zur Bestimmung des Globulins im Harn und in serösen Flüssigkeiten. Archiv für experimentelle Pathol. und Pharmakol., Bd. 20, 426.



war, konnte ich mich dadurch überzeugen, daß sich auch durch minutenlanges Auskochen des zu den Spaltungsversuchen benützten Blutglobulins mit Wasser auch nicht die Spur einer Substanz in Lösung bringen ließ, die die für Kohlehydrate so empfindliche Reaktion nach Molisch-Udranszky gab.

Ich betone dies ausdrücklich, weil damit erwiesen ist, daß die von mir aus Blutglobulin abgespaltenen und identifizierten Kohlehydrate tatsächlich ein Spaltungsprodukt dieses Eiweißkörpers sind und sich nicht von beigemengten Substanzen nicht eiweißartiger Natur ableiten. Dabei soll vorläufig vollständig von der Frage abgesehen werden, inwieweit wir das Blutglobulin als ein Gemenge verschiedener Eiweißkörper zu betrachten haben.

Da sich für die Versuche die Verarbeitung mehrerer Kilogramm Blutglobulins als notwendig erwies, die Darstellung so großer Mengen aber aus äußeren Gründen nicht im Bereich der mir gebotenen Möglichkeit lag, haben auf meine Bitte die Höchster Farbwerke die Herstellung des Blutglobulins nach der angegebenen Vorschrift übernommen. Für die Lieferung tadelloser Präparate bin ich den Direktoren der Farbwerke zu herzlichstem Dank verpflichtet.

Vor allem galt es, die Menge des im Globulin enthaltenen Kohlehydrates zu bestimmen, und zu diesem Zwecke war es nötig, vergleichende Analysen darüber anzustellen, unter welchen Bedingungen die größte Ausbeute an reduzierender Substanz erhalten wird. Die Spaltungen wurden mit drei-, fünf-, zwanzigprozentiger und konzentrierter Salzsäure und auch mit fünfprozentiger Bromwasserstoffsäure in folgender Weise vorgenommen. Je 25 g des trockenen Präparates wurden in einem Rundkolben in 500  $cm^3$  der Säure zuerst auf dem Wasserbade gelöst und die Lösung 3 bis 4 Stunden am Rückflußkühler in lebhaftem Sieden erhalten. Die Resultate der Versuche waren die gleichen, ob der Säurespaltung eine kurzdauernde Quellung in Alkali vorhergegangen war oder nicht. In Intervallen von je einer Stunde wurden der Flüssigkeit Proben entnommen, deren Gehalt an Kohlehydrat mit Fehling'scher Lösung titriert wurde. Es war jedoch notwendig, vor der Titration mit Natronlauge

genau zu neutralisieren, mit Essigsäure anzusäuern und dann zu filtrieren; denn nur durch dieses Vorgehen können die die Schwarzfärbung der Flüssigkeit bedingenden Melanine, die sich bei der Hydrolyse des Blutglobulins schnell und reichlich bilden, ausgefällt werden. Man erhält jedoch selbst nach dieser Methode dunkelgelbe Lösungen, die noch so starke Biuretreaktion zeigen, daß eine genaue Titration mit Fehling'scher Lösung unmöglich ist, insbesondere im Hinblick auf die geringen Mengen reduzierender Substanz, die aus Blutglobulin durch Säure abspaltbar sind. Bei diesem Verfahren stören auch die großen Volumina sehr, mit denen man schließlich zu arbeiten gezwungen ist. Zweckmäßiger hat es sich erwiesen, die Ausfällung des größten Teiles der Eiweißreaktion gebenden Substanzen mit einer sehr konzentrierten Lösung von Phosphorwolframsäure vorzunehmen. Es wurde in der Weise vorgegangen, daß nach der Spaltung zu der erkalteten Flüssigkeit ( $500\text{ cm}^3$ )  $200\text{ cm}^3$  einer 20prozentigen Phosphorwolframsäurelösung zugesetzt wurden. Vom massigen Niederschlag wurde auf der Nutsche abgesaugt, das absolut farblose Filtrat bis zu einem bestimmten Volumen auf einem 40grädigen Wasserbad eingedampft und hierauf die Titration mit Fehling'scher Lösung vorgenommen. Befand sich in der Lösung ein Überschuß von Phosphorwolframsäure, so erhielt man in der Regel während der Konzentration auf dem Wasserbade einen weiteren Niederschlag, der so zäh an den Wänden der Abdampfschale haftete, daß die klare Lösung leicht abgegossen werden konnte. Ein geringer Überschuß von Phosphorwolframsäure stört die Titration keineswegs.

Dieses Verfahren hat den Vorteil, daß man mit klaren farblosen Lösungen arbeitet und die Beimengung Biuretreaktion gebender Körper so gering wird, daß eine ziemliche Genauigkeit bei der Titration zu erreichen ist. Selbstverständlich können aber die Resultate der Optimumbestimmungen, die nach dieser Methode ausgeführt wurden, nur als Minimalzahlen gelten. Über die Resultate dieser Bestimmungen gibt folgender Auszug aus den Versuchsprotokollen Aufschluß:

Reines Blutglobulin (für sämtliche Vorversuche kamen je  $25\text{ g}$  zur Verwendung), mit  $500\text{ cm}^3$  dreiprozentiger Salzsäure

gekocht, liefert nach einer Stunde 0·7% reduzierender Substanz (auf Traubenzucker berechnet), nach zwei Stunden 0·98%, nach drei Stunden 1·1%, nach vier Stunden 0·93%.

Reines Blutglobulin, mit 500  $cm^3$  zehnpromentiger Salzsäure gekocht, liefert nach einer Stunde 0·68%, nach zwei Stunden 0·53%; bei weiter fortgesetztem Kochen werden nur so geringe Mengen Zuckers abgespalten, daß eine genaue quantitative Bestimmung mit Rücksicht auf die großen Volumina unmöglich wird.

Reines Blutglobulin, mit 500  $cm^3$  Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1·19 gekocht, lieferte keine nennenswerten Ausbeuten an reduzierender Substanz.

Reines Blutglobulin, mit fünfprozentiger Bromwasserstoffsäure gekocht, liefert nach einer Stunde 1·12% reduzierender Substanz, nach zwei Stunden 1·36% reduzierender Substanz, nach drei Stunden 1·4% reduzierender Substanz, nach vier Stunden 1·3% reduzierender Substanz.

Aus diesen Versuchen ergibt sich folgendes: Die beste Ausbeute an reduzierender Substanz liefert die Spaltung mit fünfprozentiger Bromwasserstoffsäure; sie erweist sich der gleich verdünnten Salzsäure überlegen. Nicht geeignet zur Abspaltung der reduzierenden Substanz sind die Säuren von stärkerer Konzentration. Diese Tatsache ist wohl nur so zu deuten, daß das abgespaltene Kohlehydrat durch die Einwirkung der konzentrierten Säuren entweder zerstört oder durch eine eintretende Kondensation mit anderen Eiweißspaltungsprodukten der titrimetrischen Berechnung entzogen wird. Da das Glukosamin sich durch eine ziemliche Beständigkeit gegen Salzsäure auszeichnet, sprach auch dieses Verhalten des Globulinzuckers gegen seine Identität mit diesem Kohlehydrat. Man hätte eher an das Vorliegen einer Ketose denken können.

Vierstündiges Kochen mit fünfprozentiger Bromwasserstoffsäure genügt fast vollständig, um die gesamte Menge der reduzierenden Substanzen abzuspalten; eine nochmalige Spaltung der aus dem Phosphorwolframsäureniederschlag durch Barytwasser in Freiheit gesetzten Eiweißkörper ergibt nur minimale Ausbeuten an Zucker. Damit ist jedoch keineswegs gesagt, daß in den durch Phosphorwolframsäure gefällten

Substanzen, die zum größten Teile den Charakter von Albumosen zeigen, kein Kohlehydratmolekül mehr enthalten ist. Der Umstand, daß die gut ausgewaschenen und umgefällten Phosphorwolframate, aus denen sich durch Säurespaltung kein Kohlehydrat mehr gewinnen läßt, eine äußerst intensive Reaktion nach Molisch geben, läßt die entgegengesetzte Annahme richtiger erscheinen. Ich werde auf dieses Verhalten noch anlässlich der Besprechung der Bindungsweise des Zuckermoleküls im Blutglobulin zurückkommen.

Vergleichen wir den Gehalt des Blutglobulins an reduzierender Substanz mit dem anderer, bisher untersuchter Eiweißkörper, so müssen wir ihn als einen außerordentlich geringen bezeichnen. Dies geht aus folgender Tabelle hervor:

Mucin aus Sputum	36·9%	reduzierende	
Substanz	.....		(Friedrich Müller) <sup>1</sup>
Submaxillarmucin	23·5%	reduzierende	
Substanz	.....		(Friedrich Müller)
Pseudomucin aus Ovarialcysten	2·18%	re-	
duzierende Substanz	.....		(Pffannenstiel) <sup>2</sup>
Pseudomucin	30%	reduzierende Substanz	(Zängerle) <sup>3</sup>
Ovomukoid	34·9%	reduzierende Substanz	(Seemann) <sup>4</sup>
Eieralbumin	9%	reduzierende Substanz	..(Seemann)
Krystallisiertes Eieralbumin	10%	reduzie-	
rende Substanz	.....		(Langstein) <sup>5</sup>
Krystallisiertes Serumalbumin	0·5%	redu-	
zierende Substanz	.....		(Langstein)
Serumglobulin	1·4%	reduzierende Substanz	(Langstein).

Daß bei der geringen Menge von Zucker, die durch Säure aus Blutglobulin abspaltbar war, nur bei Verwendung einer

<sup>1</sup> Friedrich Müller, l. c.

<sup>2</sup> Pffannenstiel, Archiv für Gynäkol., 1890, 38, 459.

<sup>3</sup> Zängerle, Zur Kenntnis des Pseudomucins aus den Eierstockcysten. Münchener med. Wochenschrift, 1900, 13.

<sup>4</sup> Seemann, Über die reduzierenden Substanzen, welche sich aus Hühnereiweiß abspalten lassen. Inauguraldissertation, Marburg, 1898.

<sup>5</sup> Langstein, Die Kohlehydratgruppe des krystallisierten Ovalbumins. Zeitschrift für physiol. Chemie, 31, 49 und l. c.

großen Menge Ausgangsmaterials die Möglichkeit bestand, die Natur desselben aufzuklären, war von vornherein klar. Die ersten Vorarbeiten mußten der Darstellung und Identifikation des Osazons gelten, über dessen Schmelzpunkt die Angaben in der Literatur differieren (Mörner 182°, Eichholz 204 bis 205°). Um größere Mengen Osazons in möglichst reinem Zustande zur Bestimmung des Schmelzpunktes wie auch für die Analyse zu gewinnen, wurde in folgender Weise vorgegangen:

Zehn Portionen 50 g reinen Blutglobulins wurden mit je 50 cm<sup>3</sup> rauchender Bromwasserstoffsäure und 1 l Wasser durch 3½ Stunden in lebhaftem Sieden erhalten. Nach dem Erkalten wurde jedes Flüssigkeitsvolumen mit einer konzentrierten Lösung von Phosphorwolframsäure bis zu einem geringen Überschuß versetzt und bei einer 40° nicht übersteigenden Temperatur eingedampft. Dabei entstanden Abscheidungen von am Glase haftenden Phosphorwolframiaten, von denen die klare Lösung abgegossen wurde. Um durch die beim Eindampfen zunehmende Säurekonzentration den Zucker nicht zu zerstören, wurden die Lösungen in Intervallen mit geschlemmtem Bleicarbonat behandelt. Man kann sich bei diesem Vorgehen durch von Zeit zu Zeit ausgeführte Titrations überzeugen, daß nennenswerte Verluste an reduzierender Substanz nicht entstehen. Außerdem bleiben die Lösungen vollständig farblos; nur bei sehr starker Einengung nehmen sie einen leicht gelblichen Farbenton an, was sich vermeiden läßt, wenn man das Abdampfen im Vakuum vornimmt. Hatte die Lösung eine Konzentration von ungefähr 1% Kohlehydrat erreicht, wurde sie mit einer geringen Menge 40prozentiger Bleiacetatlösung versetzt, wobei unter anderem auch die Phosphorwolframsäure ausgefällt wird. Der Zucker selbst wurde hierauf durch Ammoniak und Bleiacetat niedergeschlagen, wobei allerdings Verluste unvermeidlich sind. Der massige Niederschlag wurde in wenig Wasser aufgeschwemmt, durch Einleiten von Schwefelwasserstoff zersetzt, der Überschuß an diesem durch Luftdurchleitung verjagt. Die wasserklare farblose Lösung, welche außer dem Zucker nur geringe Mengen von Aminosäuren erhielt, wurde zur Darstellung des Osazons verwendet. Nach halbstündigem

Erwärmen auf dem Wasserbad mit salzsaurem Phenylhydrazin und Erkalten der Lösung war eine reichliche Menge Osazons als gelber Bodensatz ausgefallen. Derselbe erwies sich unter dem Mikroskop nur zum Teil als krystallinisch; in Garben vereinigte Nadeln waren stellenweise von dunkelbraunen Kugeln dicht durchsetzt. Wurde die vom Osazon filtrierte Lösung noch ein zweitesmal auf dem Wasserbad der Reaktion mit Phenylhydrazin unterworfen, so konnten noch weitere Mengen Osazons gewonnen werden. Doch bestand dasselbe zum größten Teil aus größeren und kleineren dunkelbraunen Tropfen, die nur stellenweise ein strahliges Gefüge erkennen ließen.

Dieser Umstand machte das Vorhandensein mehrerer Kohlehydrate wahrscheinlich und ich beschränkte mich vorläufig darauf, größere Mengen des deutlich krystallinischen Osazons zur Schmelzpunktbestimmung und Analyse zu gewinnen. Durch Waschen des Osazons mit Äther und wiederholtes Umkrystallisieren aus Wasser und schließlich aus verdünntem Alkohol gelang es, ein Präparat herzustellen, das nur aus schöngelben Krystallbündeln bestand und einen konstanten Schmelzpunkt von 204 bis 205° zeigte. Es gelang jedoch vorderhand nicht, die nicht unbeträchtliche Menge desjenigen Osazons, das aus braunen Kugeln bestand, in einen Zustand überzuführen, der Gewähr für die Einheitlichkeit des Präparates bot. Der Schmelzpunkt desselben war inkonstant und zeigte Differenzen von 171 bis 196° (unkorr.). Die Analyse des gut krystallisierenden Osazons vom Schmelzpunkt 204° ergab folgende Werte:

In 100 Teilen:

	Berechnet für Glukosazon	Gefunden
C .....	60·3	60·24
H .....	6·19	6·21
N .....	15·67	15·71

Die Analyse der amorphen Präparate ergab folgende Werte:

Präparat I:

58·1% C      6·07% H

## Präparat II.

61·73% C      5·92% H.

Ich bin nicht in der Lage, anzugeben, worauf die Differenzen in den Elementaranalysen der Präparate des amorphen Osazons beruhen. Es ist deswegen auch nicht möglich, aus den Analysen irgendwelche Rückschlüsse auf das Vorhandensein bestimmter Kohlehydratkomplexe zu ziehen. Denn es berechnet sich:

für Maltosazon .....55·4 % C und 6·15% H  
für Pentosazon .....62·14% C und 6·14% H.

Abzuweisen war indes wohl der Gedanke, daß die amorphen Präparate ein verunreinigtes Glukosazon darstellen.

So hatte sich als feststehende Tatsache aus der Darstellung und Analyse der Osazone ergeben, daß Kohlehydrate mit 6 Atomen Kohlenstoff vorliegen, von denen eines dadurch charakterisiert ist, daß sein Osazon mit Glukosazon identisch ist. Dieses Osazon wird — soweit bisher bekannt — von vier Kohlehydraten geliefert: der *d*-Glukose, *d*-Mannose, der Lävulose und dem Glukosamin. Auf Grund der vorhandenen Methoden ist es möglich, diese Kohlehydrate durch bestimmte Reaktionen, respektive Derivate zu unterscheiden. Sowohl die Glukose als die Mannose geben charakteristische Oxydationsprodukte bei Behandlung mit Salpetersäure, die Mannose außerdem ein sehr schwer lösliches Hydrazon; beide Zucker gären und drehen rechts, während der Lävulose Gärfähigkeit und Linksdrehung zukommt. Außerdem gibt diese die Ketosenreaktion nach Seliwanoff<sup>1</sup> und reagiert, wie Neuberg<sup>2</sup> gezeigt hat, mit Methylphenylhydrazin in charakteristischer Weise. Das Glukosamin läßt sich zur Norisozuckersäure oxydieren und nach Neuberg und Wolff<sup>3</sup> durch das norisozuckersaure Cinchonin eindeutig identifizieren.

<sup>1</sup> Seliwanoff, Ber. der Deutschen chem. Ges., 20, 181.

<sup>2</sup> Neuberg, Ber. der Deutschen chem. Ges., XXXV, 4, 959.

<sup>3</sup> Neuberg und Wolff, Ber. der Deutschen chem. Ges., XXXIV, 15, 3840.

Bevor auf Grund dieser Überlegungen an die Versuche herangegangen wurde, die zur Identifizierung des Globulinzuckers dienen sollten, wurden, um Anhaltspunkte in irgendeiner Richtung zu gewinnen, die für die Kohlehydrate charakteristischen und differentialdiagnostisch zu verwertenden qualitativen Reaktionen mit der Lösung der Globulinzucker angestellt. Äußerst stark war die Reaktion nach Molisch; die Ketosenreaktion von Seliwanoff (mit Resorcinsalzsäure) fiel so schwach positiv aus, daß sie nicht im Sinne des Vorhandenseins einer Ketose verwertet wurde. Mit Orcinsalzsäure erhitzt gab der Globulinzucker keine Pentosenreaktion; wurde die Lösung desselben jedoch nach der Bial'schen Modifikation mit Orcinsalzsäure und wenig Eisenchlorid gekocht, so färbte sie sich grün und zeigte bei der spektroskopischen Untersuchung einen Streifen auf der Linie *B*. Während Bial<sup>1</sup> in seiner ersten Mitteilung angibt, daß die Reaktion mit dem Orcineisenchloridreagens charakteristisch ist für die gepaarten Glykuronsäuren und Pentosen, hat O. Neubauer<sup>2</sup> im Laboratorium Fr. Müller's gezeigt, daß fast alle Kohlehydrate mit diesem kombinierten Reagens Grünfärbung mit einem Streifen im Roten geben, der dem ersten Streifen der typischen Orcinreaktion entspricht. O. Neubauer, der im Mai vorigen Jahres seine Untersuchungen über die Reaktion fortführte, hat mir ferner darüber folgendes zu Protokoll gegeben, was ich mit seiner Erlaubnis hier wörtlich anführe: »Die Lösung des Globulinzuckers verhält sich so wie die Lösung von Traubenzucker oder Galaktose, kurz: wie die Lösung einer Aldo-hexose, nicht aber wie eine Lösung von Glukosamin. Denn dieses gibt die Orcineisenchloridreaktion auch nicht andeutungsweise. Wird die Lösung des Globulinzuckers mit Orcinsalzsäure und mehr Eisenchlorid erhitzt, tritt ebenfalls Grünfärbung ein. Die Lösung zeigt dann neben dem Streifen auf *B* auch einen zweiten schwächeren Streifen links von der Linie *D*. (Dieser Streifen wurde früher als für Pentosen und Glykuronsäure charakteristisch angesehen.)«

---

<sup>1</sup> Bial, Deutsche mediz. Wochenschrift, 1902, 15.

<sup>2</sup> O. Neubauer, zitiert bei L. Langstein: Die Bildung von Kohlehydraten aus Eiweiß. Ergebnisse d. Physiol., I.



Bial<sup>1</sup> ist unabhängig von Neubauer später zu denselben Ergebnissen gelangt wie dieser. Auch er gibt an, daß eine Reihe von Aldohexosen die Orcineisenchloridreaktion gibt im Gegensatz zum Glukosamin, und schlägt vor, die Reaktion differentialdiagnostisch für die Natur der Eiweißzucker zu verwerten.

Für meine Untersuchungen hat sich jedenfalls durch das Ergebnis der Bial'schen Reaktion die wichtige Tatsache ergeben, daß, falls Glukosamin im Globulinmolekül enthalten ist, es nicht das einzige am Aufbau desselben beteiligte Kohlehydrat darstellt, sondern daß zumindest noch eine zweite Aldohexose vorliegt.

Um mehrere Kohlehydrate nebeneinander nachzuweisen, hat Neuberg gemeinschaftlich mit Wolff<sup>2</sup> in zweckmäßiger Weise eine Oxydationsmethode ausgearbeitet, die sich in ihrer Anwendung auf das Blutglobulin gut bewährte. Die Methode beruht darauf, daß Glukosamin bei Behandlung mit Salpetersäure Norisozuckersäure liefert, Galaktose und Aminogalaktose zu Schleimsäure oxydiert werden, aus Glykuronsäure, Gulose etc. sich jedoch Zuckersäure bildet. Diese Säuren können durch das in physikalischer und chemischer Hinsicht verschiedene Verhalten gewisser Salze voneinander getrennt werden.

Für die Oxydationsversuche kamen 600 g Blutglobulins in Portionen von je 60 g des staubfein gepulverten Materials zur Verwendung. Dieselben wurden zuerst mit 50 cm<sup>3</sup> rauchender Bromwasserstoffsäure ( $D = 1.49$ ) so lange durchgeschüttelt, bis sich eine steife Gallerte gebildet hatte. Nach zwölfstündigem Stehen derselben wurde sie in 500 cm<sup>3</sup> Wasser suspendiert und die Suspension drei Stunden am Rückflußkühler gekocht. Die Entfärbung der Lösung durch Knochenkohle ist nicht leicht; man erhält auch, wenn man längere Zeit mit dieser kocht, immer noch stark dunkelbraun gefärbte Lösungen. Nachdem in einer Probe der Flüssigkeit der Gehalt an Bromwasserstoffsäure durch Titration mit Normallauge bestimmt war, wurden

---

<sup>1</sup> Bial, Über die Verwendung der Orcineisenchloridreaktion zur Untersuchung von Kohlehydraten und Eiweißkörpern. Fortschritte der Medizin, Nr. 1, 1903.

<sup>2</sup> Neuberg und Wolff, l. c.

in dieselbe vier Fünftel der äquivalenten Menge von Bleioxyd allmählich unter kräftigem Schütteln eingetragen. In zwei Stunden war diese Prozedur beendet. Nachdem sich das Bromblei abgesetzt hatte, wurde von diesem abgesaugt; es resultierte ein klares, gelb gefärbtes Filtrat, das deutlich reduzierte.

Dasselbe wurde wiederholt unter Zusatz von Wasser im Vakuum eingeengt, so daß der überschüssige Bromwasserstoff vollständig verflüchtigte. Es blieb ein dunkelbrauner Sirup übrig, der nun dreimal mit geringen Volumina 96prozentigen Alkohols ausgekocht wurde. (Dann ist man sicher, alle reduzierende Substanz in Lösung gebracht zu haben.) Die alkoholische Lösung wurde 24 Stunden stehen gelassen, vom ausgefallenen Niederschlag abfiltriert und die alkoholische Lösung schließlich zum Sirup verdampft, der der Oxydation mit Salpetersäure (von  $D = 1.2$ ) unterworfen wurde. Diese Oxydation muß äußerst vorsichtig durchgeführt werden; denn es besteht bei den relativ geringen Mengen von Kohlehydrat, die in Lösung sind, die große Gefahr, daß nur Oxalsäure und nicht die charakteristischen Dicarbonsäuren entstehen, was nicht in dieser Weise zu befürchten ist, wenn kohlehydratreiche Eiweißkörper der Oxydationsmethode unterworfen werden.

Ich habe die Oxydation in Intervallen mit je  $10\text{ cm}^3$  Salpetersäure vorgenommen und so lange fortgesetzt, bis Reduktion nicht mehr nachweisbar war. Ist man zu diesem Endpunkt der Reaktion gelangt, so wird der restierende, gelb gefärbte Sirup zweimal mit  $200\text{ cm}^3$  Wasser abgedampft, um sämtliche Salpetersäure zu verjagen. Schließlich wurde mit wenig Wasser aufgenommen und die Lösung der Dicarbonsäuren in folgender Weise verarbeitet.

Nach der Entfärbung mit Knochenkohle wurden die letzten Reste der Bromwasserstoffsäure durch Zusatz von Silbernitrat quantitativ ausgefällt. Nach Filtration und Neutralisation mit Ammoniak wurde mit wenig Essigsäure ausgesäuert und hierauf eine Probe der Lösung durch Zusatz von Calciumacetat auf Oxalsäure geprüft. Ist die Oxydation in richtiger Weise verlaufen, so ist solche nicht nachweisbar. In zwei meiner Proben hatten sich reichlichere Mengen derselben gebildet; sie wurden nicht weiter auf die anderen Dicarbonsäuren verarbeitet.

Die Lösung der Dicarbonsäuren wurde nun zum Sieden erhitzt und in der Siedehitze so lange reinstes Cinchonin eingetragen, bis die saure Reaktion abgestumpft war.

Dann wurde erkalten gelassen, vom überschüssigen ausgefallenen Cinchonin abgesaugt und die Lösung eingengt.

Es trat jedoch weder bei Einengung auf dem Wasserbade in der Wärme noch auch bei mehrtägigem Stehen in der Kälte Krystallbildung in dieser auf. Eine solche Krystallisation hätte aber auf Grund der Befunde Neuberg's, die ich nach meinen Versuchen an der Kohlehydratgruppe des Mukoids vollständig bestätigen kann,<sup>1</sup> auftreten müssen, wenn in der Lösung das schwer lösliche Cinchoninsalz der Norisozuckersäure, des charakteristischen Oxydationsproduktes des Glukosamins, enthalten gewesen wäre.

Es befand sich jedoch in dem Sirup eine leichter lösliche Verbindung, die unter anderen Bedingungen zur Krystallisation zu bringen war. Wurde nämlich der Sirup, nachdem bei einwöchentlichem Stehen im Exsikkator über Schwefelsäure Krystallisation nicht eingetreten war, mit wenig absolutem Alkohol ausgekocht und nach Entfärbung des Auszuges mit Knochenkohle derselbe konzentriert, so schieden sich nach dreitägigem Stehen im Exsikkator Krystalle aus, die sich beim Durchreiben rasch vermehrten und, aus heißem Wasser umkrystallisiert, unter dem Mikroskop den Eindruck einer einheitlichen Substanz machten. Zu ihrer Analyse reichte die Menge leider nicht aus (0·04 g). Dieselben schmolzen nicht, bei 190° trat Bräunung, bei 228° Zersetzung ein. Es unterliegt wohl, wenn wir die physikalischen Konstanten dieser Verbindung (außerordentlich leichte Löslichkeit und Zersetzungspunkt) mit den von Neuberg festgestellten des Cinchonin-*d*-Saccharates vergleichen, keinem Zweifel, daß dieses vorlag (Zersetzung desselben bei 190°, außerordentlich leichte Löslichkeit in Wasser und heißem Alkohol).

Durch das Ergebnis des im vorstehenden mitgeteilten Oxydationsversuches war demnach folgendes sichergestellt:

---

<sup>1</sup> Langstein, Bemerkungen über das Ovomukoid. Beiträge zur chem. Physiol. und Pathol., III, 510.

Im Blutglobulin fehlt eine Glykosamin liefernde Gruppe ebenso als eine Galaktose liefernde. Denn es wurde bei der Oxydation weder Norisozuckersäure noch auch Schleimsäure erhalten; hingegen ist mit großer Wahrscheinlichkeit festgestellt, daß sich an seinem Aufbau ein Zucker beteiligt, der bei der Oxydation Zuckersäure liefert.

Die letzterwähnte Annahme wurde noch durch folgenden Versuch erhärtet. Es wurde zunächst eine relativ reine Kohlehydratlösung nach demselben Verfahren hergestellt, welches, wie im vorstehenden beschrieben, zu einem relativ reinen Osazon geführt hatte. Dieselbe wurde bei niedriger Temperatur auf dem Wasserbade und schließlich im Vakuum konzentriert und der Sirup mit geringen Mengen Salpetersäure ( $D = 1.2$ ) bis zum Verschwinden der reduzierenden Substanz oxydiert. Nach Ausfällung der Oxalsäure mit Calciumacetat bei Gegenwart von essigsäurem Ammon (es hatte sich nur eine kleine Menge gebildet) wurde mit Essigsäure und Calciumcarbonat reagiert und in der Tat ein Niederschlag erhalten, der, in kaltem Wasser schwer löslich, die für das zuckersaure Kalium charakteristischen Krystallformen bot.

In der Lösung war außerdem ein amorphes, leicht lösliches Kaliumsalz einer organischen Säure vorhanden, über deren chemische Struktur ich vorläufig nichts näheres aussagen kann.

Bei kritischer Zusammenstellung der Resultate, welche die Untersuchung der Osazone und die Ergebnisse der Oxydationsversuche gezeitigt hatte, wurde die Annahme sehr wahrscheinlich, daß unter den am Aufbau des Globulins beteiligten Kohlehydraten sich Glukose oder vielleicht auch Mannose befand, wollte man nicht die Annahme machen, daß ein bisher überhaupt unbekanntes, durch das gleiche Osazon wie diese beiden charakterisiertes Kohlehydrat vorliege. Der exakte Beweis dafür mußte geliefert werden. Beiläufig möchte ich bemerken, daß es nicht gelang, aus der Lösung, welche die durch ammoniakalisches Blei gefällten Substanzen, also neben Kohlehydraten sicherlich auch Aminosäuren enthielt, einen Zucker in krystallinischem Zustand oder analysenfähiger Form zu gewinnen. Alle in dieser Richtung angestellten Versuche

schlugen fehl, es konnte kein Lösungsmittel gefunden werden, welches aus dem die Kohlehydratreaktionen in stärkstem Maße gebenden Sirup einheitliche Substanzen extrahierte; zudem war ja die Fällung der Kohlehydrate durch ammoniakalisches Blei stets eine unvollständige.

Es ergab sich die Notwendigkeit, eine Methode anzuwenden, durch die sich die Kohlehydrate von den begleitenden Eiweißspaltungsprodukten möglichst vollständig trennen und in befriedigender Ausbeute isolieren lassen. Dies gelang durch die von Baumann-Schotten<sup>1</sup> eingeführte Veresterung der Zucker mit Benzoylchlorid, welche von Friedrich Müller zuerst zu Untersuchungen der Kohlehydratgruppe der Eiweißkörper angewendet wurde. Obwohl die Untersuchungen dieses Forschers einwandfrei dargetan haben, daß bei Anwendung dieser Methode eine vorhergehende Entfernung der Substanzen von Eiweißcharakter nicht notwendig ist, schien mir dieselbe mit Rücksicht auf den relativ geringen Gehalt der Lösung an Zucker doch angezeigt, und ich habe sie wie in den vorhergehenden Versuchen durch Fällung mit Phosphorwolframsäure bewirkt.

Zur Darstellung der Benzoyl ester der Kohlehydrate des Blutglobulins wurde ungefähr 1 kg dieses Eiweißkörpers verwendet und das Verfahren der Benzoylierung mit einer Lösung vorgenommen, die ungefähr eine Konzentration von  $\frac{1}{2}$  ‰ Kohlehydrat besaß; aus derselben war der Überschuß der vorher zugefügten Phosphorwolframsäure durch wenig konzentrierte Bleiacetatlösung ausgefällt und das in Lösung befindliche Blei durch Schwefelwasserstoff entfernt worden.

Die Benzoylierung wurde mit einem ganz reinen, von Kahlbaum bezogenen Präparat in der üblichen Weise vorgenommen.

Auf je 2 g des Zuckers wurden 25 g Benzoylchlorid und 200  $cm^3$  einer zehnpromzentigen Natronlauge verwendet, das Schütteln, durch welches die Veresterung bewirkt werden sollte, unter guter Kühlung vorgenommen. Um eine möglichst vollständige Ausbeute an Benzoylestern zu erzielen, wurde

---

<sup>1</sup> Baumann-Schotten, Ber. der Deutschen chem. Ges., Bd. 21, S. 2744 und 2938.

das Filtrat des ersten Niederschlages noch einmal der Veresterung mit 5 g Benzoylchlorid unterworfen. Dabei bildete sich regelmäßig noch eine zweite, wenn auch geringe Menge von Benzoylestern. Während der erste Niederschlag aber eine grobkörnige, sich gut absetzende Masse war, gelang es bei der Wiederholung der Veresterung gewöhnlich, nur ölige Produkte zu erhalten, die jedoch bei langem Stehen unter Wasser konsistenter wurden. Nach zweimaliger Veresterung zeigten die Lösungen höchstens spurenweise Reduktion.

Die gelb gefärbten Benzoylverbindungen wurden durch Absaugen und Abpressen von der Mutterlauge gründlich befreit, dann zur Entfernung von eventuell beigemengten Spuren von Benzoesäure mit ammoniakalischem Wasser gut durchgeknetet und schließlich mit Wasser gewaschen. Daß wirklich die Kohlehydratester vorlagen, darüber gab die mit kleinsten Mengen des Reaktionsproduktes in äußerst intensiver Weise auftretende Probe von Molisch Aufschluß. Zur Anstellung derselben mit den Benzoylprodukten ist es jedoch zweckmäßig, diese vor der Zufügung von Naphtol und konzentrierter Schwefelsäure nicht in Wasser, sondern in ganz verdünnter Natronlauge aufzuschwemmen, welche deren Verseifung einleitet.

Vergleichsweise habe ich die Benzoylierung mit Natriumbicarbonat und Benzoylchlorid angewendet, ein Verfahren, welches nach Emil Fischer dann gute Dienste leistet, wenn alkaliempfindliche Benzoylester sich bilden.

Im vorliegenden Falle ist die Benzoylierung bei Gegenwart von Lauge vorzuziehen, denn man vermeidet die Beimengung von Benzoylestern der Aminosäuren, die sich bei diesem Verfahren bilden, und ferner auch das Entstehen von Benzoesäureanhydrid, das bei der Isolierung bestimmter Ester störend wirkt. Letztere Beobachtung, das reichliche Auftreten von Benzoesäureanhydrid bei der Benzoylierung, finde ich auch in einem Aufsätze von Jaffe.<sup>1</sup> Da dieser eingehende Untersuchungen darüber in Aussicht stellt, möge hier die bloße Erwähnung genügen.

---

<sup>1</sup> Jaffe M., Über die Einwirkung des Formaldehyds auf Kreatin und Kreatinin. Ber. der Deutschen chem. Ges., 35, 15, 2806.

Bevor ich auf die Versuche eingehe, die zur Identifikation der Benzoyl ester angestellt wurden, möchte ich die Tatsache mitteilen, daß eine fast doppelt so große Ausbeute an denselben erhalten wurde, als auf Grund der Titrationsversuche vorauszusehen war, selbst unter der Annahme, daß die reduzierenden, 6 C enthaltenden Kohlehydrate die größtmögliche Anzahl von Benzoylradikalen aufgenommen hatten. Dadurch drängte sich naturgemäß der Gedanke auf, daß Kohlehydrate von geringerer reduzierender Kraft als der Traubenzucker oder andere veresterungsfähige Substanzen in der Lösung enthalten waren, die jedoch nicht zu den bisher bekannten Aminosäuren gehören.

Die lufttrockenen Benzoate ließen sich durch fraktionierte Lösung voneinander trennen. Als Lösungsmittel kamen zur Verwendung: Äther, kalter absoluter Alkohol und heißer absoluter Alkohol.

In den Äther ging weitaus der größte Teil der mit ihm digerierten Kohlehydratester in Lösung.

Die ätherische Lösung (I) färbte sich dabei gelb. Der sirupöse Rückstand löste sich zum Teil in kaltem (II), der Rest fast ganz in siedendem absoluten Alkohol (III), fiel jedoch partiell beim Erkalten der Lösung wieder aus. Die ätherische Lösung drehte die Ebene des polarisierten Lichtes stark nach rechts, in geringem Grade war dies auch bei der Lösung II der Fall; über die optische Aktivität des nur in heißem absoluten Alkohol löslichen Benzoylestere ließ sich naturgemäß nichts ermitteln.

#### Ätherische Lösung I.

Nach dem Abdunsten des Äthers hinterblieb ein gelber Sirup, der nach kurzer Zeit zu einem Krystallbrei erstarrte. Eine Isolierung der Krystalle aus der Mutterlauge war nicht möglich. Die nach Lassaigue angestellte Stickstoffprobe zeitigte ein positives Resultat. Um zu einheitlichen Substanzen zu gelangen, erwies sich folgendes Verfahren als zweckmäßig. Der sirupöse Rückstand wurde wieder in ätherische Lösung gebracht, was jedoch mit Schwierigkeiten verbunden war und

nicht vollständig gelang. Der unlöslich gewordene Anteil löste sich jedoch leicht in absolutem Alkohol und wurde mit Lösung II vereinigt. Die ätherische Lösung  $500 \text{ cm}^3$  (der Äther war über Natrium getrocknet) wurde zunächst mit dem gleichen Volumen wasserfreien Petroläthers versetzt. Dabei trat eine milchige Färbung der Flüssigkeit ein. Bei längerem Rühren mit dem Glasstab setzte sich ein klebriger Niederschlag an Wand und Boden des Gefäßes ab, und nach 24stündigem Stehen in der Kälte wurde die Lösung klar und durchsichtig. Dieselbe wurde vom zähe haftenden Niederschlag abgegossen und abermals mit  $500 \text{ cm}^3$  Petroläthers versetzt, wobei sofort ein flockiger weißer Niederschlag in ziemlich reichlicher Menge entstand, der sich binnen kurzem gut absetzte und ein klares Abgießen der überstehenden Flüssigkeit gestattete. Diese wurde nun mit einem großen Überschuß von Petroläther versetzt, wobei nur mehr eine leichte Trübung auftrat; nach 24 Stunden wurde die Flüssigkeit klar, indem sich der die Trübung bedingende Niederschlag am Boden des Gefäßes abgesetzt hatte. Diese Flüssigkeit, welche nur mehr die in Ligroin leicht löslichen Benzoyl ester enthielt, wurde im Vakuum und schließlich auf dem Wasserbade bei sehr gelinder Temperatur eingengt und hinterließ beim Verdunsten schön ausgebildete Krystallnadeln, die, der Lassaigue'schen Probe unterworfen, keine Spur von Stickstoff zeigten. Sie gaben die Reaktion nach Molisch in exquisiter Weise; ihr Schmelzpunkt hingegen war nicht konstant. Das Umkrystallisieren war mit großen Schwierigkeiten verbunden. Denn die Krystalle, die vorher so leicht in die Äther-Petrolätherlösung übergegangen waren, waren hinterher selbst durch warmen Alkohol nur schwer in Lösung zu bringen. Diese Veränderlichkeit der Ester in ihrem Verhalten zu den Lösungsmitteln erschwerte überhaupt sehr die Darstellung sicher einheitlicher Krystallisationsfraktionen.

Der Teil, der im warmen Alkohol in Lösung ging und beim Abdunsten desselben in farblosen Krystallen, die einen Schmelzpunkt von  $162$  bis  $168^\circ$  zeigten, zurückblieb, gab bei der Analyse folgende Werte:

$$68.98\% \text{ C, } 4.54\% \text{ H, } 26.48\% \text{ O.}$$



Der Stickstoffbestimmung nach Dumas unterworfen erwies sich die Substanz als vollkommen stickstofffrei.

Vergleichen wir die Analysenwerte mit den für Glukosebenzoaten berechneten, so ergibt sich, daß ein mit geringen Mengen Glukosepentabenzoat vermengtes Glukosetetrabenzoat vorlag.

Es berechnet sich nämlich

In 100 Teilen:

	Berechnet für $C_6H_9(C_7H_5O)_3O_6$	Berechnet für $C_6H_8(C_7H_5O)_4O_6$	Berechnet für $C_6H_7(C_7H_5O)_5O_6$
C . . . . .	66·85	68·45	70·28
H . . . . .	4·88	4·69	4·57
O . . . . .	29·17	26·85	25·15

Auf die Darstellung eines absolut einheitlichen Benzoylproduktes wurde wegen des wertvollen Materiales verzichtet und vorgezogen, durch Verseifung des Esters den Zucker darzustellen und denselben zu identifizieren.

Die Verseifung wurde nach dem Vorgehen Küeny's<sup>1</sup> mit Natriumäthylat ausgeführt.

3 g des Benzoates wurden in heißem Alkohol gelöst und, bevor durch völliges Erkalten eine partielle Ausscheidung der Krystalle begann, mit einer 20prozentigen alkoholischen Natriumäthylatlösung unter guter Kühlung vermischt. Die Mischung wurde so lange auf Eis gehalten, bis eine herausgenommene Probe mit Wasser keinen Niederschlag mehr gab. Nachdem dieser Punkt, der die vollkommene Verseifung der Benzoyl ester anzeigte, erreicht war, wurde die durch Wasserzusatz noch verdünnte Lösung durch Schwefelsäure neutralisiert, d. h. es wurde die berechnete Menge dieser Säure zugesetzt, um das Natrium in Sulfat zu verwandeln. Nachdem die gelöste Benzoesäure durch wiederholtes Ausschütteln mit Äther entfernt war, wurde die Lösung bei einer 40° nicht übersteigenden

<sup>1</sup> Küeny, Über Benzoesäureester der Kohlehydrate, des Glykosamins und einiger Glykoside. Zeitschrift für physiol. Chemie, XIV, 330.

Temperatur zur Trockene verdampft. Durch dreimalige Extraktion des Trockenrückstandes mit Alkohol gelang es leicht, sämtliche reduzierende Substanz in Lösung zu bringen. Nachdem der Alkohol abgedunstet war, hinterblieb der Zucker als sirupöse Masse. Derselbe reduzierte Fehling'sche Lösung und Nylander's Reagens, seine Lösung drehte das polarisierte Licht nach rechts, jedoch unter Zugrundelegung der für Traubenzucker bekannten spezifischen Drehung etwas geringer als dieser. Mit Hefeabkochung der Vergärung durch Hefepilze ausgesetzt, war bei einer Temperatur von 24° die Hauptmenge des Zuckers nach 12 Stunden vergoren, und nach 24 Stunden waren auch nicht einmal mehr Spuren reduzierender Substanz nachweisbar. Wenn ich noch hinzufüge, daß aus der Zuckerlösung kein schwer lösliches Hydrazon, hingegen ein schön krystallisierendes, bei 204° schmelzendes Osazon dargestellt werden konnte, so sind alle Eigenschaften für den Globulinzucker, respektive für einen der Globulinzucker gegeben, welche ihn als echte Glukose, als Traubenzucker, kennzeichnen.

Die Identifikation der übrigen am Aufbau des Serumglobulins beteiligten Kohlehydrate gelang nicht in so vollkommener Weise. Vor allem möge die Beschreibung desjenigen Benzoylestere folgen, der aus der ätherischen Lösung durch Ligroin fällbar war. Auch dieser erwies sich hinterher sehr schwer alkohollöslich.

Durch mehrmalige Extraktion mit siedendem 98prozentigen Alkohol ließ sich der größte Teil in Lösung bringen. Dieselbe wurde durch Knochenkohle entfärbt und durch einen Heißwassertrichter filtriert. Beim Erkalten der Lösung fielen schneeweiße Nadeln bis zu 0.5 *cm* Länge aus, die nach einmaligem Umkrystallisieren einen Schmelzpunkt von 196° (unkorr.) zeigten und bei der Analyse folgende Werte gaben.

0.1335 *g* Substanz gaben 0.3388 *g* CO<sub>2</sub> und 0.0604 *g* H<sub>2</sub>O.  
 0.112 *g* gaben bei 20.8° und 748.5 *mm* 3.51 Volumen Stickstoff.  
 Daraus berechnet sich . . . 69.21% C, 5.01% H, 3.48% N.

Um die Sicherheit zu haben, daß wirklich der Benzoyl ester eines Kohlehydrates vorliegt, wurde mit der geringen restlichen

Menge der Krystalle die Verseifung mit Natriumäthylat in der früher beschriebenen Weise vorgenommen. Die schließlich resultierende Lösung der Substanz gab intensiv die Reaktion nach Molisch und reduzierte Fehling'sche Lösung. Pentosenreaktionen fielen negativ aus. Ein Osazon ließ sich darstellen. Durch diese Eigenschaften wie die Analyse des Benzoylesters war mit Sicherheit erwiesen, daß sich am Aufbau des Blutglobulins außer der einwandfrei identifizierten Glukose auch ein stickstoffhaltiges Kohlehydrat beteiligt, über dessen chemische Struktur sich auf Grund vorliegender Tatsachen nicht allzu viel aussagen läßt.

Sicher handelt es sich in der vorliegenden Verbindung um die Benzoylverbindung einer Aminohexose; vergleichen wir ihre Analysenwerte mit den für Tetrabenzoylglukosamin und Pentabenzoylglukosamin berechneten

Tetrabenzoylglukosamin . . . 68·57% C, 4·87% H, 2·35 N,  
Pentabenzoylglukosamin . . . 70·38% C, 4·37% H, 2·00 N,

so drängt sich der Gedanke auf, daß dieselbe ein Gemenge dieser beiden Verbindungen darstellt. Gegen eine solche Annahme spricht jedoch, abgesehen vom zu hohen Stickstoffgehalt, die bereits erwähnte Tatsache, daß es durch Oxydation des Globulins nicht gelang, Norisozuckersäure, respektive das charakteristische Derivat derselben, das norisozuckersaure Cinchonin, darzustellen. Es muß die Diskussion darüber, welche Aminohexose vorliegt, so lange vertagt werden, bis es gelungen ist, durch Verseifung des Benzoates den Zucker selbst darzustellen; über das Ergebnis eines solchen Versuches, der durch die geringe Menge, in dem das stickstoffhaltige Kohlehydrat erhältlich ist, sehr erschwert wird, hoffe ich, in einer weiteren Mitteilung berichten zu können.

Es gelang nicht, aus dem in kaltem Alkohol löslichen Teil der Benzoylprodukte (Lösung II) sicher einheitliche Verbindungen zu isolieren. Es resultierten immer wieder sirupöse, mit Krystallnadeln massenhaft durchsetzte Massen, deren Trennung von der Mutterlauge nicht gelang. Auf eine solche wurde schließlich verzichtet und versucht, durch Verseifung mit Natriumäthylat den Zucker darzustellen, um Anhaltspunkte

über seine Struktur zu gewinnen. An der wässrigen Lösung der durch Verseifung in Freiheit gesetzten Zucker fiel zunächst auf, daß die intensive Furfurolreaktion nach Molisch wie das starke Reduktionsvermögen zur optischen Aktivität in großem Mißverhältnisse stand. Während die Lösung reduzierte wie eine zweiprozentige Traubenzuckerlösung, drehte sie die Ebene des polarisierten Lichtes, wie durch wiederholte Ablesungen ermittelt wurde, nur in einer Stärke nach rechts wie eine 0·18prozentige. Überraschend war das Resultat der Vergärung. Die Lösung vergor so stark wie eine einprozentige Traubenzuckerlösung, doch war es nicht möglich, sämtliche Kohlehydrate zu vergären. Selbst nach tagelangem Stehen im warmen Raume reduzierte die Lösung Fehling's Reagens. Durch dieses Verhalten war zur Evidenz erwiesen, daß die alkoholische Lösung der Benzoylprodukte ein Gemenge verschiedener chemischer Individuen enthielt. Sicherlich war unter denselben noch Glukose vorhanden. Denn die anfängliche geringe Rechtsdrehung hatte nach der Vergärung einer Linksdrehung Platz gemacht, die einer 0·3prozentigen Zuckerlösung vom Drehungsvermögen der Glukose entsprach. Durch den Vergleich zwischen Reduktion, Drehung und Gärung wurde die Annahme gerechtfertigt, daß auch ein linksdrehender vergärbarer Zucker vorliege; und es gelang in der Tat, Lävulose einwandfrei zu identifizieren. Denn nicht nur die Probe nach Selinoff fiel deutlich positiv aus (Eintreten der prachtvoll roten Färbung in der Kälte beim Zusammenbringen mit Resorcinsalzsäure, Bildung eines Niederschlages beim Erhitzen), es gelang auch die Darstellung des Methylphenylhydrazinderivates, das nach Neuberg<sup>1</sup> die Lävulose einwandfrei charakterisiert, nach folgender Methode: Die alkoholische Lösung des aus den Benzoylprodukten durch Verseifung gewonnenen Zuckers wurde nach Behandlung mit Knochenkohle auf ihren Gehalt an reduzierender Substanz untersucht, auf ein kleines Volumen gebracht und mit der berechneten Menge Methylphenylhydrazins (3 Mol. auf 1 Mol. Zucker) versetzt. Nach achtstündigem Stehen in der Kälte hatte sich ein geringer Niederschlag gebildet. Von

<sup>1</sup> Neuberg, l. c.

diesem wurde abfiltriert und die Lösung nach Zusatz von 50% Essigsäure und wenig Alkohol 24 Stunden im Brutschrank stehen gelassen. Nach dieser Zeit hatte sich ein ziemlich beträchtlicher Bodensatz, aus schönen gelben Kristallen bestehend, gebildet.

Die Kristalle, aus Alkohol gereinigt, zeigten einen Schmelzpunkt von 155 bis 156°, waren demnach das charakteristische Fruktosemethylphenylosazon.

Daß außer der linksdrehenden vergärenden Ketose noch ein anderes Kohlehydrat vorhanden war, dem Linksdrehung zukam, aber die Gärfähigkeit mangelte, habe ich bereits erwähnt. Es gelang auch der exakte Nachweis, daß nicht vielleicht ein Rest von Lävulose vorlag, der aus nicht näher gekannten Gründen für die Hefepilze unangreifbar wurde, sondern eine andere linksdrehende Aldohexose. Denn die durch Schütteln mit Kieselgur und Filtration von den Hefezellen befreite reduzierende Lösung dieses Zuckers zeigte nur die Reaktion nach Molisch, hingegen die Reaktion nach Seliwanoff auch nicht andeutungsweise; mit Methylphenylhydrazin fand keine Reaktion statt; hingegen gelang es, durch Erhitzen mit salzsaurem Phenylhydrazin und Natriumacetat auf dem Wasserbad ein Osazon darzustellen, das, in kaltem Wasser unlöslich, in braunen Kugeln ausfiel. Durch Umkrystallisieren aus heißem Wasser wurde das Osazon gereinigt; es bestand dann aus doppeltbrechenden Kugeln, die vereinzelt ein strahliges Gefüge zeigten. Der Schmelzpunkt der Kugeln lag bei 184 bis 186°.

Es erübrigt noch, kurz auf die Beschreibung derjenigen Produkte einzugehen, die in heißem Alkohol von vorneherein nur sehr schwer löslich waren. Unter diesen waren Substanzen, die nicht den Charakter von Kohlehydraten zeigten; denn nach Verseifung reduzierten sie auch nicht spurenweise und gaben nicht die Farbenreaktionen der Kohlehydrate. Ich habe Grund zu der Annahme, daß Kohlehydratsäuren vorlagen; eines der Produkte, das in kugeligen Aggregaten krystallisierte, erinnerte mich an den Benzoyl ester der von mir aus Serumalbumin dargestellten Kohlehydratsäure; da die Analysen nicht zu übereinstimmenden Werten führten, muß ich es mir versagen, jetzt schon über die Natur dieser Körper Bestimmtes auszusprechen.

Es ist vielleicht zweckmäßig, die chemischen Befunde, die sich auf die reduzierenden Kohlehydrate des Globulins beziehen, in der Richtung zu kritisieren, ob die nachgewiesenen Zucker sämtlich primär entstandene Spaltungsprodukte des Blutglobulins darstellen. Für die Glukose, den Aminozucker, das linksdrehende Kohlehydrat und die supponierten Kohlehydratsäuren das zu bezweifeln liegt kein Grund vor. Anders steht es mit dem Befund der Fruktose. Durch die Forschungen von C. A. Lobry de Bruyn und Alberda v. Ekenstein<sup>1</sup> haben wir Kenntnis erhalten, daß Glukose, Mannose, Lävulose in alkalischer Lösung außerordentlich leicht ineinander übergehen. Wenn wir bedenken, daß in unserem Falle unmittelbar nach der Säurespaltung des Globulins die mit der Lösung der Kohlehydrate angestellte Seliwanoff'sche Reaktion so schwach positiv ausfiel, daß an das Vorliegen einer Ketose von mir nicht gedacht wurde, die Untersuchung der Zucker, die aus ihren Benzoylestern in Freiheit gesetzt wurden, das Vorhandensein von Fruktose einwandfrei ergab, liegt es nahe, daran zu denken, daß sich diese aus der Glukose durch die alkalische Reaktion gebildet habe. Denn Alkali kam sowohl zum Zwecke der Benzoylierung als auch bei der Verseifung in Anwendung. Erst wenn sich die Anwesenheit von Fruktose ohne vorhergehende Anwendung von Alkali wird feststellen lassen, wird man von einem Vorhandensein dieses Zuckers im Blutglobulin sprechen können; ich fasse daher die Resultate meiner Untersuchungen über die reduzierenden Substanzen des Blutglobulins vorläufig in folgende Sätze zusammen:

1. Unter den Spaltungsprodukten des Blutglobulins ist mit Sicherheit *d*-Glukose nachgewiesen; dieselbe stellt ein primäres Spaltungsprodukt dieses Eiweißkörpers dar; ob sich die gleichfalls sicher identifizierte Fruktose am Aufbau des Blutglobulins beteiligt oder sich erst sekundär aus Glukose durch die Alkaliwirkung gebildet hat, ist vorläufig nicht entschieden.

---

<sup>1</sup> C. A. Lobry de Bruyn und Alberda v. Ekenstein, Recueil des trav. chimiques des Pays Bas, Bd. 14, S. 156 und 203.

2. Sicher nachgewiesen unter den Kohlehydraten des Blutglobulins ist eine Aminohexose, die sich vom Glukosamin, das bisher als Eiweißzucker katochogen galt, in einigen bemerkenswerten Punkten unterscheidet.

3. Die mitgeteilten Untersuchungen machen es wahrscheinlich, daß sich am Aufbau des Globulins auch eine linksdrehende Aldose und Kohlehydrat-säuren noch unbekannter Konstitution beteiligen.

### III.

Es sei mir gestattet, mit wenigen Worten auf die Bedeutung hinzuweisen, welche die im vorhergehenden mitgeteilten chemischen Befunde für die Physiologie und Pathologie des Stoffwechsels haben, respektive gewinnen können. Eine solche Betrachtungsweise ist umso notwendiger, als die chemische Erforschung der Zuckereiweißfrage ja vom Standpunkt der Diabetesforscher aus inauguriert wurde, die durch sie das Wesen der Zuckerbildung aus Eiweiß in den schweren Fällen der Zuckerharnruhr zu ergründen hofften.

Wenn auch durch den von mir gebrachten Nachweis der Glukose als integrierenden Bestandteil des Serumglobulins zum erstenmal unmittelbare Beziehungen zwischen Eiweiß und Glykogen gegeben sind,<sup>1</sup> so ist es auf der anderen Seite doch selbstverständlich, daß die geringe Menge des Traubenzuckers, die in diesem Bluteiweißkörper enthalten ist, unmöglich die vom schweren Diabetiker ausgeschiedene Zuckermenge, die ja in vielen Fällen 100 g und mehr täglich beträgt, decken kann.

Immerhin gewänne der Befund eine große physiologische Bedeutung, wenn sich experimentell erweisen ließe, daß das Blutglobulin den Traubenzucker, dieses im Haushalt des tierischen Organismus die wichtigste Rolle spielende Kohlehydrat, an sich bindet, sich mit ihm belädt, um es in der Leber abzugeben. Es wäre denkbar, daß unter verschiedenen Ernährungs-

<sup>1</sup> Hofmeister machte bereits das Vorhandensein mehrerer Kohlehydrate im Eiweißmolekül wahrscheinlich. Neuberg hat durch Oxydation des Eigelbalbumins neben Norisozuckersäure Zuckersäure erhalten und damit den Beweis geliefert, daß in diesem Eiweißkörper zwei verschiedene Hexosen gebunden sind.

bedingungen mehr oder weniger Zuckermoleküle an das Globulin gebunden sein können, und die Lehre von der Glykolyse muß nun auch von diesem Gesichtspunkte aus ein erneutes Studium erfahren. Auch die von Seegen<sup>1</sup> erhobenen Befunde eines stickstoffhaltigen Polysaccharids in der Leber, aus dem sich Glukose abspalten läßt, könnten in dem Sinne verwertet werden, daß in der Leber ein stufenweiser Abbau des Blutglobulins erfolgt.

Ob auch die nachgewiesene Aminohexose Beziehungen zur Glykogenbildung hat, kann ohne genaue Kenntnis ihrer Konstitution nicht entschieden werden. Immerhin muß die Möglichkeit zugegeben werden; hat sich doch auch durch die bedeutsamen Untersuchungen von Emil Fischer und Leuchs<sup>2</sup> die nahe Verwandtschaft zwischen Glukosamin und Glukose ergeben, und wir stellen keine allzu gewagte Hypothese auf, wenn wir dem tierischen Organismus die Fähigkeit zuschreiben, aus dem im Eiweißmolekül verankerten Glukosamin durch Desamidierung zur Glykose zu gelangen, wenn ein solcher Übergang für das freie Glykosamin auch nicht erwiesen werden konnte; die interessanten Tierversuche von Blumenthal und Wohlgemuth<sup>3</sup> sind gerade durch die Aufklärung der Konstitution des Glukosamins durch Emil Fischer und Leuchs, wie auch durch Neuberg<sup>4</sup> unserem Verständnis näher gerückt worden.

Von den für die Physiologie und Pathologie bedeutsamen Fragen, die durch den Nachweis eines gärfähigen Zuckers im Serumglobulin aufgerollt wurden, beschäftigen mich zur Zeit die Erforschung der chemischen Konfiguration der Serum-eiweißkörper beim schweren Diabetes sowie das Studium der Glykolyse in der gegebenen Richtung.

---

<sup>1</sup> Seegen, Die Zuckerbildung im Tierkörper, ihr Umfang und ihre Bedeutung. Berlin 1900, Verlag Hirschwald.

<sup>2</sup> Emil Fischer und Leuchs, Ber. der Deutschen chem. Ges., 1902, 3, 3787.

<sup>3</sup> Blumenthal und Wohlgemuth, Über Glykogenbildung nach Eiweißfütterung. Berl. klin. Woch., 1901, 15.

<sup>4</sup> Neuberg, Ber. der Deutschen chem. Ges., 1902, 1009.