

Zur Kenntnis einiger Reaktionen der Hexosen

von

stud. phil. **Rudolf Ofner.**

Aus dem chemischen Laboratorium der k. k. deutschen Universität in Prag.

(Vorgelegt in der Sitzung am 17. März 1904.)

1. Die Seliwanoff'sche Reaktion.

Im Jahre 1885 hat A. Ihl¹ gefunden, daß die Kohlehydrate, wie Rohrzucker, Traubenzucker, Milchzucker, Dextrin und Stärke beim Kochen mit verdünnter H_2SO_4 oder HCl in karamelartige Körper übergehen, welche mit Phenolen (die beiden Naphtole, Resorcin, Phloroglucin, Pyrogallussäure) bei Gegenwart von Salzsäure leicht färbige Verbindungen liefern; besonders reaktionsfähig erwies sich Rübenzuckerkaramel. Später hat Loew² die Einwirkung von Resorcin und »etwas Salzsäure« in konzentrierter alkoholischer Lösung studiert und gefunden, daß Formose sofort eine tief Rubinrote Färbung, Fruchtzucker und Rohrzucker eine zwiebelrote Färbung geben.

Bei Dextrose trat erst nach längerem Kochen eine schwach rötliche Färbung ein. Später hat Seliwanoff³ die von Ihl beschriebene Reaktion mit Rohrzucker erhalten, indem er eine kaltbereitete wässrige Lösung von 2 Teilen Rohrzucker und 1 Teil Resorcin mit »konzentrierter Salzsäure« schnell erwärmte. Das Gemisch färbte sich rasch rot und nach

¹ Chem. Centralblatt, 1885, p. 761; Chem. Zeitung, 1886, 231, 451, 485; Pol. Not. XL., 188 bis 189.

² Journal für prakt. Chemie., XXXIII., 332 (1886).

³ Ber. XX., 181 bis 182 (1887).

dem Erkalten setzte sich ein reichlicher dunkler Niederschlag ab, der sich in Alkohol mit schön roter Farbe löste. Dieselbe Reaktion erhielt er bei Fruchtzucker und Raffinose, nicht aber bei Dextrose, Galaktose, Maltose, Milchzucker und Inosit. Die Reaktion wurde von ihm daher als spezifische Reaktion auf Lävulose und jene Polyosen erklärt, welche bei der Spaltung Fruchtzucker liefern.

Nach Tollens¹ geben auch Mannose und die Pentosen diese Reaktion nicht. Im Jahre 1891 bespricht Seliwanoff² nochmals seine Reaktion, indem er erklärt, daß nur bei der Hydrolyse Lävulose liefernde Zucker diese Reaktion geben.

Lobry de Bruyn und A. van Eckenstein³ fanden, daß auch die synthetisch erhaltenen Ketosen der Hexosenreihe, wie Tagatose, Galtose, Pseudofruktose, die »Seliwanoff'sche Reaktion« geben, und später zeigte Neuberg,⁴ daß sie den Ketozuckern aller Reihen zukomme. Denn Arabinoketose, Ketotetrose und Dioxyaceton liefern nach Neuberg den gleichen oder zum mindesten einen in der Nuance von demjenigen der Seliwanoff'schen Reaktion nicht zu unterscheidenden Farbstoff. Es wurde daher die Seliwanoff'sche Reaktion nicht mehr als spezifische Reaktion auf Lävulose, sondern als allgemeine Ketosenreaktion angewendet.

Wenn man die Angaben über die Einwirkung der Salzsäure auf Zucker bei Gegenwart von Resorcin in der Literatur verfolgt, so muß es auffallen, daß einige Forscher das Eintreten einer intensiven Farbenreaktion auch bei Aldosen erhalten haben, während nach Seliwanoff dies nur eine Lävulose-Reaktion, nach Neuberg eine allgemeine Ketosenreaktion sein soll. Die beiden letztgenannten Forscher erhielten tatsächlich bei Aldosen negative Resultate, während A. Ihl bei Traubenzucker und Milchzucker mit Resorcin und Salzsäure färbige Verbindungen erhalten hatte, bevor noch Seliwanoff seine Reaktion veröffentlicht hat.

¹ Versuchsstation, 39, 421.

² Chem. Centralblatt, 1891, I, 55.

³ Rec. des Trav. chim. des Pays Bas, 16, 262 (1897).

⁴ Zeitschr. für physiol. Chemie: XXXI, 564 (1900); XXXVI, 228.

Loew wiederum hat zwar bei Formose die tiefrubinrote Färbung konstatiert, dagegen erhielt er bei der Lävulose und Rohrzucker nur eine zwiebelrote Färbung. Bei Dextrose trat erst nach längerem Kochen eine schwachrötliche Färbung ein. A. Conrady¹ erhielt die Färbung und die Trübung bei Fruchtzucker und Glukose, dagegen nicht bei Milchzucker, so daß er diese Reaktion zum Nachweis von Rohrzucker, beziehungsweise Glukose in Milchzucker empfahl.

Anläßlich einer demnächst mitzuteilenden Untersuchung der Produkte der Hydrolyse der Polysaccharide des Samens von *Nepheium lappaceum* habe ich mich der Seliwanoff'schen Reaktion bedient und hiebei Beobachtungen gemacht, welche mich zu näherem Eingehen auf dieselbe veranlaßten. Die auseinandergehenden Befunde haben hienach ihren Grund darin, daß der positive Ausfall der Reaktion auch bei Aldosen hauptsächlich von der Konzentration der angewendeten Salzsäure in der Lösung abhängig ist. Daher ist auch die Seliwanoff'sche Reaktion in der Form, wie sie von Seliwanoff selbst angegeben wird, unzuverlässig und unbrauchbar. Seliwanoff legt nämlich in seiner Vorschrift gar kein Gewicht auf die Menge und die Konzentration der Salzsäure. Bei den von mir angestellten Versuchen hat sich aber gezeigt, daß auch die Aldosen, wie Glukose und Mannose, und ebenso die Maltose bei entsprechender Konzentration der Salzsäure die rote Färbung und den charakteristischen Niederschlag, allerdings mit verschiedener Intensität, geben; hingegen ist die alkoholische Lösung des Niederschlages in allen diesen Fällen von derselben Färbung. Bei Galaktose und Milchzucker ist der Niederschlag unter Anwendung ungefähr gleicher Mengen weniger ausgiebig, als bei Glukose. Pentosen liefern zumeist keine rote Färbung und einen grünlichschwarzen Niederschlag, der mit dem der Fruktose nicht zu verwechseln ist. Die Salzsäure wirkt eben auf die verschiedenen Zucker verschieden stark ein. Wird Fruktose in einer 12% HCl-Lösung

¹ Chem. Centralblatt, 1895, 362.

zirka 30 Sekunden erhitzt, so wird die Lösung braun (was auf Zersetzung schließen läßt), und der Zusatz von etwas Resorcin zu der heißen Lösung genügt, um die charakteristische Färbung intensiv hervorzubringen.

Dagegen erhält man unter den gleichen Umständen bei Traubenzucker ohne Resorcin keine Braunfärbung der Lösung und die Zugabe von Resorcin bewirkt nur eine schwache Rosa-färbung oder lichte Braunfärbung. Dies stimmt mit der allgemeinen Erfahrung überein, daß die Lävulose leichter zersetzlich ist als die Glukose. Nimmt man dagegen eine 24-prozentige Salzsäure, so tritt auch beim Traubenzucker die analoge Reaktion, die schon bei 18% Salzsäure bemerkbar ist, in der gleichen Intensität auf, wie sie bei Fruchtzucker bereits durch eine zwölfprozentige Salzsäure erhalten wird. Aus diesem Grunde läßt sich erklären, warum zum Beispiele Conrady bei Glukose Färbung und Niederschlag bekam, während Seliwanoff und Neuberg die Reaktion bei Aldosen nicht erhielten. Letzterer nahm, ähnlich wie Tollens¹, starke Salzsäure, im Verhältnisse 1:1 mit Wasser verdünnt, bei welcher Konzentration die Aldosen, wenn sie sehr rasch erhitzt werden, keine besonders starke Farbenreaktion zeigen. Doch braucht man nur etwas länger zu erhitzen oder diese Konzentration nur um wenig zu überschreiten, so stellt sich auch bei den Aldosen die Reaktion in intensiver Weise ein.

Nach meinen Untersuchungen, die systematisch mit Salzsäuren verschiedener Konzentration bei nachstehenden Zuckerarten: Fruktose, Glukose, Rohrzucker, Mannose², Maltose, Galaktose, Milchzucker, Isodulcit und Arabinose angestellt wurden, hat sich gezeigt, daß zur Prüfung auf Fruktose neben Traubenzucker und anderen Aldosen die Seliwanoff'sche Reaktion dahin abgeändert werden müsse, daß man eine kleine Menge Zucker mit wenig Resorcin in 3 bis 4 cm^3 zwölfprozentiger Salzsäure löst und nicht länger als 20 Sekunden kocht. Bei Gegenwart von Lävulose tritt sofort eine tiefrote Färbung und starke

¹ L. c.

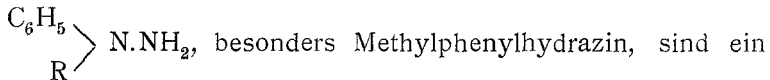
² Bei Mannose tritt die Farbstoffbildung deutlicher auf als bei den übrigen Aldosen.

Trübung ein. Liegt zur Untersuchung eine Zuckerlösung oder Harn vor, so fügt man zu einer Probe soviel konzentrierte HCl hinzu, bis die Flüssigkeit 12% Salzsäure enthält und erhitzt in der angegebenen Dauer. Dies ist für den Nachweis der Fruktose die einzig richtige Form der Anwendung dieser Reaktion, welche Irrtümer ausschließt, und so ausgeführt liefert sie gleichzeitig eine schön nuancierte Färbung, wie schon Miura¹ bemerkt hatte, der aus diesem Grunde die Konzentration der Salzsäure im Verhältnisse 2:1 als zweckmäßig empfohlen hat.

Es muß ausdrücklich darauf hingewiesen werden, daß bei der Anwendung der Seliwanoff'schen Reaktion, besonders wo es sich um den Nachweis kleiner Mengen von Fruktose, wie bei Harnuntersuchungen, handelt, die Konzentrationsgrenze der Salzsäure von 12% keinesfalls überschritten werden darf. Alle anderen angegebenen Konzentrationsverhältnisse, insbesondere aber die vagen Vorschriften wie »konzentrierte Salzsäure« oder »mäßig verdünnte Salzsäure« können sehr leicht zu unrichtigen Resultaten führen, weil die Grenzen eines positiven und negativen Ausfalles der Reaktion nahe bei einander liegen.

2. Anwendung von Benzylphenylhydrazin.

In seiner Abhandlung über die Trennung von Aldosen und Ketosen mit sekundär substituierten Phenylhydrazinen kommt Neuberg² auf Grund seiner Arbeiten zu folgendem Schlusse: »Sekundäre asymmetrische Hydrazine vom Typus



ausgezeichnetes Reagens auf Ketosen; denn nur Ketozucker geben mit Methylphenylhydrazin das Osazon, während die Aldosen und Aminozucker dazu nicht befähigt sind. Die beiden letzteren liefern damit ausschließlich farblose Hydrazone, die in allen Fällen leicht von dem intensiv gefärbten Osazon getrennt werden können. Vorweg sei noch bemerkt,

¹ Zeitschrift für Biologie, XXXII. 262 (1895).

² Berl. Ber., XXXV, 959 (1902).

daß die verschiedene Reaktionsfähigkeit von Aldosen und Ketosen gegenüber den asymmetrischen, sekundären Hydrazinen nicht durch sterische Hinderung bedingt ist, sondern sich auf Grund einer früheren Beobachtung von Emil Fischer ganz anders erklärt.« Emil Fischer¹ hat nämlich aus dem *d*-Glukoson mit Methylphenylhydrazin eine Verbindung von der Formel eines Methylphenylosazons ($C_{20}H_{26}N_4O_4$) dargestellt — dieses erwies sich später als identisch mit dem von Neuberg erhaltenen Methylphenylosazon des Fruchtzuckers — während aus dem Traubenzucker dieses Osazon direkt nicht darzustellen war. Da nun nach Emil Fischer die Osazonbildung ein Oxydationsprozeß ist, bei dem sich intermediär Oson bildet, so war man der Ansicht, daß nur die primäre Alkoholgruppe der Ketosen von den sekundär substituierten Hydrazinen unter Bildung von Oson oxydiert werden könne, nicht aber die sekundäre der Aldosen. Diese Behauptung trifft nach meinen bisherigen Erfahrungen wohl für das von E. Fischer verwendete Methylphenylhydrazin² zu, kann aber nicht als für alle sekundären Phenylhydrazine geltend angesehen werden; denn das asymmetrische Benzylphenylhydrazin gibt auch mit Traubenzucker ein Osazon, was Neuberg wohl übersehen hat. Nimmt man analog der von Neuberg für die Darstellung des Benzylphenylosazons aus *d*-Fruktose gegebenen Vorschrift, statt dieser Ketose absolut reinen Traubenzucker,³ so bemerkt man, daß sich zuerst ein braunes Öl abscheidet, welches nach einigem Stehen kristallinisch wird. Dieser Körper, der sich stets vor Abscheidung des Hydrazons bildet, doch zu keiner weiteren Störung Anlaß

¹ Berl. Ber., 22, 91.

² Während des Druckes dieser Arbeit ist mir auch die Darstellung des Methylphenylglukosazons aus Glukose und Methylphenylhydrazin gelungen, wodurch das hierüber Gesagte sinngemäße Einschränkung erfährt. Ich werde demnächst hierüber ausführlich berichten.

³ Die Versuche wurden mit verschiedenen Präparaten von Traubenzucker angestellt, und zwar mit einem im Laboratorium dargestellten, auf seine Reinheit geprüften Traubenzucker, ferner mit einem von Merk bezogenen, durch Polarisation überprüften Präparate und außerdem mit einer ganz reinen, aus Harn gewonnenen Glukose.

gibt, da er sich durch seine leichte Löslichkeit im Äther von dem Hydrazon leicht trennen läßt, hat sich als eine Verunreinigung des käuflichen Benzylphenylhydrazins herausgestellt, über die nächstens Näheres berichtet wird. Bald nach Abscheidung dieses Körpers beginnt das weiße Hydrazon sich niederzuschlagen. Läßt man nun einige Tage stehen, so bildet sich, anfangs in geringer Menge, noch eine dritte Art von Kristallen, welche intensiv gelb gefärbt sind und in Form von seidenartigen, verfilzten Nadelchen auftreten. Diese Kristalle lagern sich über dem weißen Hydrazon und können von diesem zum größten Teile mit der Mutterlauge leicht abgossen werden. Wird nun diese noch weitere 14 Tage bis 3 Wochen unter wiederholtem Umschütteln in geschlossenem Gefäße stehen gelassen, so nimmt der Niederschlag an Menge zu. Auf diese Weise wurde aus 1·8 g Traubenzucker 0·5 g dieser Substanz erhalten. Sowohl die äußeren Eigenschaften als auch der Schmelzpunkt (188° bis 190°) und die Stickstoffbestimmung haben erwiesen, daß es sich hier um das Osazon des Traubenzuckers handle. Der Schmelzpunkt dieses Präparates wurde durch Beimischung ungefähr der gleichen Menge nach Neuberg dargestellten »Benzylphenylfructosazons« nicht herabgedrückt.

Der Umstand, daß sich das schwerer lösliche Osazon erst später über dem Hydrazon abscheidet, ließ sofort vermuten, daß es sich erst aus dem noch in Lösung befindlichen Hydrazon und Benzylphenylhydrazin bilde. Diese Überlegung führte nun dazu, das Osazon aus dem Hydrazon des Traubenzuckers durch Einwirkung von überschüssigem Benzylphenylhydrazin darzustellen. Zu diesem Zwecke wurden 5 g Benzylphenylhydrazon des Traubenzuckers in heißem Alkohole gelöst, hierauf bis zur beginnenden Trübung mit Wasser versetzt, ferner 10cm^3 50prozentiger Essigsäure und 15 g Benzylphenylhydrazin zugegeben, dann auf dem Wasserbade unter Rückflußkühlung einige Stunden erhitzt. Schließlich wurde in verkorktem Kölbchen stehen gelassen. Nach einigen Stunden hatte sich wieder das braune Öl, nämlich die oben erwähnte Verunreinigung des Benzylphenylhydrazins, welche zum Teile schon kristallinisch erstarrt war, ausgeschieden. Von diesem wurde

nun abfiltriert und das Filtrat in verschlossenem Gefäße stehen gelassen. Nach 3 Tagen waren bereits 1·2 g Osazon ausgeschieden, während sich im Filtrate desselben innerhalb 14 Tage noch ungefähr 1 g desselben gebildet hat. Das aus diesem Produkte resultierende Filtrat wurde mit Wasser verdünnt und zum Teile auf dem Wasserbade eingedampft, dann stehen gelassen. Nach einiger Zeit schieden sich über 2 g eines Gemisches von Hydrazon und Osazon aus.

In einer anderen Probe wurde reiner, in wenig Wasser gelöster Traubenzucker aus Harn, mit einem großen Überschusse von Benzylphenylhydrazin in alkoholischer Lösung nach Zusatz von verdünnter Essigsäure einige Stunden erhitzt. Nachdem zuerst die kristallisierende Verunreinigung entfernt worden war, fiel das Osazon, wenn auch in geringer Ausbeute, aus. Später schieden sich weitere Mengen eines Gemisches von Osazon und Hydrazon aus, die nach längerer Zeit zu einer beträchtlichen Quantität anwuchsen. Es wurde somit der Beweis erbracht, daß Benzylphenylhydrazin auch mit Traubenzucker ein Osazon liefert, wodurch die Ansicht Emil Fischer's gestützt wird, daß es sich hier um keine sterische Hinderung handelt, da ja diese beim Benzylphenylhydrazin, wegen der größeren Benzylgruppe, größer sein müßte, als beim Methylphenylhydrazin. Mit letzterem konnte aber bisher das Osazon des Traubenzuckers nicht erhalten werden.¹

Eine allgemeine für alle sekundären Hydrazine geltende Regel, die Osazonbildung betreffend, besteht daher nicht, und es ist unter allen Umständen zum Nachweise von Fruchtzucker neben Glukose auf diesem Wege, Methylphenylhydrazin anzuwenden. Diesem gab schon Neuberg hinsichtlich der Osazonbildung den Vorzug vor dem Benzylphenylhydrazin, ohne daß ihm bekannt war, daß letzteres befähigt ist, auch mit Traubenzucker Osazon zu bilden.

Von Interesse ist die Beobachtung, daß bei der Behandlung des Benzylphenylhydrazons des Traubenzuckers mit viel über-

¹ Siehe Fußnote auf Seite 6.

schüssigem, salzsauren Phenylhydrazin und Natriumacetat durch längeres Erhitzen auf dem Wasserbade in verdünnter alkoholischer Lösung nicht ein gemischtes Osazon, wie zu erwarten wäre, entsteht; sondern es bildet sich das Phenyl-osazon (Schmelzpunkt 205°) indem, die Benzylphenylhydrazin-Gruppe verdrängt wird.

0·1910 g Substanz lieferten bei $t = 11^{\circ}$ und $b = 739 \text{ mm}$
 $26\cdot2 \text{ cm}^3$ feuchten Stickstoff.

In 100 Teilen:

	Gefunden	Berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_4\text{N}_4$
N.	15·91	15·6

Es sei mir an dieser Stelle gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Guido Goldschmiedt, meinen wärmsten und aufrichtigsten Dank auszusprechen für die liebevolle Unterstützung, die er meiner Arbeit im vollsten Maße angedeihen ließ.

Nachtrag.

Während des Druckes vorstehender Abhandlung erschien die dritte Auflage von E. v. Lippmann's »Die Chemie der Zuckerarten«, deren Vorrede vom März 1904 datiert ist. In den »Nachträgen und Ergänzungen« auf Seite 1873 des Werkes findet sich nachstehende Notiz:

»Nach Votoček (Zeitschr. für Zuckerindustrie in Böhmen, Bd. 27, S. 708) sollen, entgegen bisherigen Erfahrungen, zwar nicht die Aldosen, wohl aber deren Phenylhydrazone mit sekundären aromatischen Hydrazinen Osazone ergeben. (?)«

Ich habe nun Einsicht in die genannte Zeitschrift genommen. Diese enthält einen »Bericht über die Tätigkeit der Versuchsstation in Prag«, erstattet in der ordentlichen Generalversammlung des »Vereines für Zuckerindustrie in Böhmen« am 27. Juni 1903, welcher an der von Lippmann zitierten Stelle nachstehendes zur Kenntnis bringt:

»Schließlich wurde die Einwirkung sekundärer aromatischer Hydrazine auf aldehydische Zuckerarten, respektive deren stickstoffhaltige Abkömmlinge studiert und dabei die überraschende Tatsache gefunden, daß, obwohl die Aldosen selbst nicht reagieren, dies sofort geschieht, sobald vorher eine Phenylhydrazingruppe in das Molekül eingeführt wurde. Aus Zucker-Phenylhydrazonen erhält man durch Einwirkung von sekundären Hydrazinen, besonders Methylphenylhydrazin, leicht gemischte, primär-sekundäre Osazone. Selbstverständlich bilden sich bei Anwendung von primären Hydrazinen gemischte, diprimäre Osazone.«

In einer für die Ber. d. d. chem. Ges. bestimmten vorläufigen Notiz, deren Inhalt hier demnächst in extenso bekannt gegeben werden soll, habe ich als Resultat meiner fortgesetzten Beschäftigung mit dem Gegenstande mitgeteilt, daß das aus Fruktose und käuflichem (phenylhydrazinhaltigem) Benzylphenylhydrazin von Neuberg erhaltene Osazon ein gemischtes Osazon von Phenylhydrazin und Benzylphenylhydrazin ist, daß ferner Fruktose mit reinem Benzylphenylhydrazin ebensowenig Osazonbildung erfährt als Glukose, daß man aber diese sofort beobachten kann, wenn man das Osazon nicht liefernde Reaktionsgemisch nachträglich mit Phenylhydrazin versetzt.

Es wird von großem Interesse sein, festzustellen, ob die von Votoček angekündigten gemischten Osazone identisch sind mit den von mir beobachteten.

Jedenfalls kann aber schon heute behauptet werden, daß das von v. Lippmann seiner Notiz beigefügte Fragezeichen, insoferne durch dasselbe ein Zweifel in die Richtigkeit der Votoček'schen Beobachtung zum Ausdruck gebracht werden sollte, ungerechtfertigt ist.

Prag, am 18. Juni 1894.