

# Einwirkung von sekundären asymmetrischen Hydrazinen auf Zucker

(II. Abhandlung)

von

**Rudolf Ofner.**

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

*Ausgeführt mit Unterstützung der Gesellschaft zur Förderung deutscher  
Wissenschaft, Kunst und Literatur in Böhmen.*

(Vorgelegt in der Sitzung am 8. Juni 1905.)

## **Bildung von Hydrazonen.**

Einige Zuckerhydrazone, wie das Methylphenylhydrazon der Glukose (Neuberg) und das der Xylose (Neuberg, Müther und Tollens) sowie das Xylosebenzylphenylhydrazon (Ruff und Ollendorf), konnten bisher aus essigsaurer Lösung nicht erhalten werden, ließen sich jedoch aus neutraler Lösung darstellen. Ich habe mir nun die Aufgabe gestellt, der Frage, inwiefern die Essigsäure die Bildung dieser Hydrazone beeinträchtigt, näher zu treten. Nebst den bereits genannten Hydrazonen wurde auch das Phenylhydrazon der Glukose und das bisher noch nicht bekannt gewesene Methylphenylhydrazon der Fruktose in den Bereich der Untersuchung gezogen. Hierbei hat sich ergeben, daß die drei erstgenannten Hydrazone, wie aus Nachstehendem zu ersehen ist, sich in ziemlich einfacher Weise auch aus essigsaurer Lösung darstellen lassen, daß also für diese Hydrazone die Annahme von der Nichtdarstellbarkeit aus essigsaurer Lösung keineswegs zutrifft. Diese Hydrazone erleiden daher natürlicherweise unter dem Einfluß verdünnter Essigsäure bei gewöhnlicher Temperatur im allgemeinen keine besondere Veränderung, unter

keinen Umständen aber jene, welche ich bei dem Phenylhydrazon der Glukose und dem Methylphenylhydrazon der Fruktose<sup>1</sup> beobachtet habe und im Nachstehenden beschreiben will. Die eben genannten beiden Hydrazone zeigen nämlich die interessante Eigenschaft, daß sie ohne jeden weiteren Zusatz von Hydrazin schon unter dem Einfluß von verdünnter Essigsäure allein das entsprechende Osazon liefern.

Glukosephenylhydrazon.<sup>2</sup> Wird eine kleine Menge des Hydrazons in 50prozentiger Essigsäure gelöst und nach Zusatz einiger Tropfen Alkohol auf dem Wasserbad erwärmt, so scheidet sich in wenigen Minuten das gelbe Phenylglukosazon in guter Ausbeute aus.<sup>3</sup> Diese Beobachtung gilt für beide Modifikationen des Glukosephenylhydrazons (Schmelzpunkt 144°, beziehungsweise 116°).

Fruktosemethylphenylhydrazon. 1 g dieses Hydrazons wurde in einer kleinen Menge verdünnten Alkohols gelöst und mit 1 *cm*<sup>3</sup> 50prozentiger Essigsäure versetzt. Die Lösung wurde sofort gelb, nach 5 Minuten bereits tiefrot. Nach Verlauf von einer Stunde wurde zuerst mit Äther, hierauf mit Ligroin versetzt und jedesmal durchgeschüttelt. Nach kurzer Zeit war das Methylphenylosazon (Schmelzpunkt 142 bis 150°) in rötlichgelben Nadeln ausgeschieden. Ausbeute ungefähr 0·3 g (= 68% der Theorie).

In beiden Fällen bildet sich daher unter der Einwirkung der Essigsäure das Osazon aus einem Teile des Hydrazons auf Kosten des anderen Teiles. Dies ist auch der Grund, weshalb diese beiden Hydrazone (ähnlich dürfte es sich auch mit anderen Hydrazone der Fruktose verhalten) aus essigsaurer

---

<sup>1</sup> Die ausführlichen Angaben über die Herstellung dieses Hydrazons lasse ich weiter unten folgen.

<sup>2</sup> Bei acht Versuchen, die ich zum Zwecke der Darstellung des isomeren Glukosephenylhydrazons (Schmelzpunkt 116°) nach der Vorschrift von Skraup (Monatshfte für Chemie, 10, 406) ausgeführt habe, resultierte siebenmal nur das zuerst von Emil Fischer (Berl. Ber., 20, 824) dargestellte Produkt vom Schmelzpunkt 144° und nur ein einziges Mal das von Skraup entdeckte Isomere (Schmelzpunkt 116°).

<sup>3</sup> Eine ähnliche Beobachtung hatte auch Tanret (Berl. Ber., 27, 392) gemacht, als er das Hydrazon in wässriger Lösung erhitzte. Doch erhielt er hiebei nur eine Spur Osazon.

Lösung nicht gewonnen werden können. Alle anderen Hydrazone jedoch, die von verdünnter Essigsäure nicht in dieser Weise verändert werden, sind unter den geeigneten Verhältnissen aus essigsaurer Lösung darstellbar.

### **Darstellung des Methylphenylhydrazons der Fruktose.**

Dieses Hydrazon ist nur aus neutraler Lösung darstellbar. 3·6 g Fruktose werden auf dem Wasserbade in 10 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst, hierauf mit 2·5 g Methylphenylhydrazin und so viel Alkohol versetzt, daß beim Umrühren eine klare, homogene Lösung entsteht. Diese wird nun über konzentrierter Schwefelsäure bei mäßigem Vakuum allmählich eingeengt. Wird das Reaktionsgemisch durch Verdunsten des Alkohols wieder unhomogen, so verrührt man es neuerdings mit der nötigen Alkoholmenge, um es hierauf der weiteren Verdunstung zu überlassen. Hierbei resultiert ein glasiger Sirup, welcher nach Ablauf eines Tages intensiv gerieben und wiederum über konzentrierte Schwefelsäure (nunmehr ohne Vakuum) gestellt wird. Nach weiteren 2 bis 3 Tagen beginnt die Kristallisation, bis schließlich die ganze Masse zu einem Brei weißer Nadeln erstarrt. Dieser wird mit etwas absolutem Alkohol angerührt, abgesaugt, in wenig Alkohol auf dem Wasserbade gelöst und durch Reiben zu rascherer Ausscheidung gebracht. Beim langsamen Auskristallisieren entstehen schöne Prismen. Das ganz reine Präparat ist lange Zeit haltbar und schmilzt bei 116 bis 120° unter Zersetzung. Äußerlich dem Methylphenylhydrazon der Glukose (Schmelzpunkt 130°) sehr ähnlich, unterscheidet es sich von demselben durch den bedeutend niedrigeren Schmelzpunkt und durch sein Verhalten gegen Essigsäure, wie bereits oben angegeben wurde. Zur Unterscheidung löst man eine kleine Menge der beiden Hydrazone, die vollständig rein sein müssen, in 80prozentiger Essigsäure oder Eisessig auf, wobei im Moment der Auflösung farblose Lösungen entstehen. Die Lösung des Fruktosehydrazons nimmt aber unmittelbar darauf eine hellgelbe, in einigen Minuten gelbrot bis tiefrot werdende Färbung an, während die Lösung des Glukosemethylphenylhydrazons noch lange Zeit farblos bleibt.

0.2001 g Fruktosemethylphenylhydrazon gaben bei  $t = 20^\circ$ ,  
 $b = 754 \text{ mm } 18 \text{ cm}^3$  feuchten Stickstoff.

In 100 Teilen:

	Gefunden	Berechnet für $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_5\text{N}_2$
N .....	10.2	9.86

Um sicherzustellen, daß es sich tatsächlich um das Fruktosemethylphenylhydrazon handle und nicht vielleicht um ein isomeres Glukosemethylphenylhydrazon, welches sich durch Umlagerung der Fruktose etwa hätte bilden können, wurden 1.5 g des reinen homogenen Produktes mit Formaldehyd (nach Ruff und Ollendorf) gespalten. Der resultierende Sirup wurde verdünnt und polarisiert, wobei Linksdrehung konstatiert worden ist. Eine kleine Probe der Lösung gab in intensivem Grade die Seliwanoff'sche Reaktion.

### Darstellung von bisher aus essigsaurer Lösung nicht gewinnbaren Hydrazonen.

I. Methylphenylhydrazon der Glukose. Dieses Hydrazon wurde zum ersten Male von Neuberg<sup>1</sup> dargestellt, der es aus neutraler Lösung gewonnen hat, nachdem Lobry de Bruyn und Alberda van Ekenstein<sup>2</sup> dasselbe aus essigsaurer Lösung nicht erhalten konnten. Doch läßt es sich aus letzterer auf folgende Weise gewinnen: 2 g fein pulverisierter Glukose werden in 5 cm<sup>3</sup> (50prozentiger) Essigsäure gut suspendiert, hierauf mit 1.8 g Methylphenylhydrazin versetzt und die Mischung im verschlossenen Kölbchen unter öfterem Schütteln bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach ungefähr 2 Stunden scheidet sich aus der inzwischen klar und tiefrot gewordenen Lösung das Hydrazon in Form von farblosen Nadeln aus. Nach Ablauf von ungefähr einer Stunde wird die Kristallmasse mit Äther wiederholt digeriert, sodann durch Abpressen auf einem Tonteller vom größten Teile der noch anhaftenden Verunreinigungen befreit und

<sup>1</sup> Neuberg, Berl. Ber., 35, 959 (1902).

<sup>2</sup> Rec. trav. chim., 15, 97, 227.

schließlich aus nicht zu viel Alkohol umkristallisiert. In vereinzelten Fällen der zahlreich angestellten Versuche wurde das Hydrazon erst durch Impfung zur Ausscheidung gebracht. Doch gelangt man in diesen Fällen, in denen das Hydrazon nach Ablauf von 3 Stunden nicht freiwillig auskristallisiert ist, ebenfalls zum Ziele, wenn man die Lösung mit Äther digeriert und durch Reiben mit einem Glasstabe zur Kristallisation anregt. Der abgeschiedene Sirup wird dickflüssiger und verwandelt sich nach kurzer Zeit in einen festen weißen Brei. Dieser wird abgesaugt und durch Umkristallisieren aus Alkohol gereinigt. Ausbeute an reinem Präparat 50% der Theorie. Schmelzpunkt 126 bis 130°. Ein von mir aus neutraler Lösung erhaltenes Glukosemethylphenylhydrazon erwies sich vollkommen identisch mit dem aus saurer Lösung dargestellten Produkte.

II. Methylphenylhydrazon der Xylose. Dieses von Neuberg<sup>1</sup> sowie von Müther und Tollens<sup>2</sup> aus neutraler Lösung erhaltene Hydrazon läßt sich, analog dem Glukosemethylphenylhydrazon, ebenfalls aus essigsaurer Lösung gewinnen:

2 g Xylose werden in 5 cm<sup>3</sup> (50prozentiger) Essigsäure gelöst, mit 1.7 g Methylphenylhydrazin versetzt und durch 2 Stunden in einem verschlossenen Kölbchen bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Hierauf wird mit ziemlich viel Äther wiederholt digeriert und der dünnflüssige Sirup mit einem Glasstabe längere Zeit gerieben. Nach kurzem Stehen wird der Sirup fest. Der Kristallbrei wird abgesaugt, auf dem Tonteller abgepreßt, mit Äther digeriert und aus Wasser nach Zusatz von wenig Alkohol umkristallisiert. Ausbeute zirka 60%. Aus Essigester (nach Neuberg) umkristallisiert, schmilzt das Hydrazon, je nach der Geschwindigkeit des Erhitzens, bei 100 bis 110°; Neuberg fand 103°, Müther und Tollens 97 bis 107°, auch 108 bis 110°.

III. Benzylphenylhydrazon der Xylose.<sup>3</sup> 2 g Xylose werden in 5 cm<sup>3</sup> (50prozentiger) Essigsäure gelöst, mit 2.7 g

---

<sup>1</sup> Neuberg (Lippmann, Chemie der Zuckerarten, 1904, S. 139).

<sup>2</sup> Berl. Ber., 37, 311 (1904).

<sup>3</sup> Aus neutraler Lösung dargestellt von Ruff und Ollendorf (Berl. Ber., 32, 3235 [1899]).

Benzylphenylhydrazin versetzt und durch 3 Stunden bei Zimmertemperatur im verschlossenen Kölbchen stehen gelassen. Die Lösung wird sodann durch Digerieren mit einem Gemisch von Äther und Ligroin (1:1) in einen Sirup verwandelt, der nach kurzem Stehen in der Kälte zu einem weißen festen Brei erstarrt. Derselbe wird mit Wasser, sodann nochmals mit Äther behandelt und aus 30prozentigem Alkohol umkristallisiert.

Schmelzpunkt 95 bis 100° (Ruff und Ollendorf 99°); Ausbeute zirka 50<sup>0</sup>/<sub>0</sub>.

### Methylphenylglukosazon.

Durch meine früheren Untersuchungen über die Einwirkung von sekundären asymmetrischen Hydrazinen auf Zucker<sup>1</sup> bin ich zu dem Resultat gelangt, daß die Ansicht Neuberg's,<sup>2</sup> es seien nur die Ketosen im stande, mit diesen Hydrazinen Osazone zu bilden, unzutreffend ist. Als Argument für die Richtigkeit seiner Behauptung macht Neuberg unter anderem geltend, daß das »Benzylphenylosazon« nur von der Fruktose und nicht von den Aldosen gebildet werden könne. Ich habe nun den Beweis erbracht,<sup>3</sup> daß das von dem genannten Forscher irrthümlich als »Benzylphenylfruktosazon« beschriebene Produkt de facto ein gemischtes Phenyl-Benzylphenylosazon ist und auch aus der Glukose gewonnen wird, wenn man, wie es Neuberg getan, mit käuflichem Benzylphenylhydrazin arbeitet, das nach meinen Beobachtungen<sup>4</sup> stets Phenylhydrazin enthält, während bei Anwendung von reinem Benzylphenylhydrazin weder aus Glukose noch aus Fruktose ein kristallisiertes Osazon erhalten werden kann.

In meiner ersten Abhandlung gleichen Titels<sup>5</sup> habe ich ferner mitgeteilt, daß es mir gelungen ist, auch das Methyl-

1 Monatshefte für Chemie, 25, 1153 (1904).

2 Berl. Ber., 35, 959, 2626 (1902).

3 L. c.

4 Monatshefte für Chemie, 25, 592 (1904).

5 L. c., 25.

phenylosazon der Glukose darzustellen, weshalb auch diesem Reagens die ihm von Neuberg zugesprochene wertvolle Eigenschaft, nur mit Ketosen Osazone zu bilden, durchaus abzuspochen war. Freilich hatte ich hiebei die Vorschrift Neuberg's<sup>1</sup> nicht genau befolgt, sondern bin auf einem, wie sich Neuberg ausdrückt, »von der gewöhnlichen Art der Osazondarstellung recht abweichenden Wege« zum Ziele gelangt. Dieser »ungewöhnliche Weg« besteht nämlich darin, daß ich mich eines Gemisches zweier Lösungsmittel (Äther und Ligroin) bedient habe, welche es ermöglichen, das bereits gebildete Osazon kristallinisch und in nicht gerade geringer Ausbeute (zirka 30% der Theorie) zur Ausscheidung zu bringen.<sup>2</sup>

Setzt man diese Lösungsmittel bereits nach 24stündigem Stehen des Reaktionsgemisches hinzu, so wird das Osazon gewöhnlich nach weiteren 6 bis 12 Stunden erhalten. Man benötigt also im ganzen eine Zeitdauer von ungefähr 30 bis 36 Stunden, selten nur ist eine längere Zeit erforderlich. Jedenfalls ist dadurch die prinzipielle Frage, ob auch Aldosen mit sekundären asymmetrischen Hydrazinen Osazon zu bilden vermögen, im entgegengesetzten Sinne der Behauptung Neuberg's

---

<sup>1</sup> Zeitschrift für physiol. Chemie, 36, 233 (1902).

<sup>2</sup> V. Grafe, welcher (Sitzungsberichte der kaiserl. Akademie der Wissenschaften in Wien, 1905, CXIV. Bd., I. und II. Heft, Abt. I, p. 15) ein Verfahren zum mikrochemischen Nachweis von Fruktose in Pflanzengewebe durch Überführung derselben in das Methylphenylosazon ausgearbeitet hat, setzt sich über die von mir festgestellte Tatsache, daß auch Glukose dasselbe Osazon zu bilden vermag, dadurch hinweg, daß auch er den von Neuberg beanständeten »ungewöhnlichen Weg«, den ich einschlug, hervorhebt, daß er ferner sagt, das Osazon entstehe »erst nach fünftägiger Einwirkung« und in »sehr geringer Ausbeute«, während er bei aufmerksamer Lektüre meiner Abhandlung (Monatshefte für Chemie, 25, 1160) gefunden hätte, daß 5 Tage das Maximum der Zeit ist, welche bei einzelnen meiner Versuche erforderlich gewesen ist, daß die meisten Versuche aber schon nach 36 Stunden zum Resultate geführt hatten, ferner, daß die von mir erzielten Ausbeuten bis 35% der Theorie betragen. Inwieweit aber meine Beobachtungen auf den Wert der Grafe'schen Methode des mikrochemischen Nachweises Einfluß haben, darüber zu urteilen bin ich, mangels eigener Erfahrungen bei den von ihm beobachteten Versuchsbedingungen, nicht in der Lage. Jedenfalls wird, angesichts meiner neuen Versuche, auch hier Vorsicht am Platze sein.

entschieden. Was nun aber den Weg der Beweisführung anbelangt, so muß es wohl jedem gestattet sein, sich für denjenigen zu entscheiden, der ihm als der tauglichste erscheint, mag er anderen auch »ungewöhnlich« erscheinen, wofern er nur zum Ziele zu führen geeignet ist.

Übrigens ist das Osazon, wie ich bereits in einer Notiz,<sup>1</sup> die Neuberg bekannt gewesen ist, mitgeteilt habe, auch ohne Zusatz von Äther und Ligroin zu erhalten, wenn man das Reaktionsgemisch nach ungefähr 48 Stunden mit Impfkristallen versetzt. Dieser Versuch wird bei Zimmertemperatur ausgeführt und erfordert im ganzen eine Zeit von 3 Tagen, während dagegen reine Fruktose unter den gleichen Bedingungen, selbst ohne Anwendung von Impfkristallen, das kristallinische Osazon in reichlicher Menge bereits in ungefähr 5 Stunden liefert. Dies ist nun ein beträchtlicher Zeitunterschied und es muß daher in ungefähr 5 Stunden bei Zimmertemperatur kristallinisch ausgeschiedenes Osazon als die Gegenwart von Fruktose unbedingt beweisend anerkannt werden.

Doch stehen die Verhältnisse nicht immer so günstig; schon die Gegenwart von ungefähr der gleichen oder gar einer größeren Menge von Glukose neben Fruktose bewirkt, wie unten angeführte Versuche beweisen, daß sich das Osazon der Fruktose unter sonst gleichen Versuchsbedingungen freiwillig erst nach 10 bis 15 Stunden und noch später kristallinisch ausscheidet.

Durch Reiben und Impfen läßt sich jedoch in solchen Fällen das Osazon der Fruktose schon nach fünf Stunden, gewöhnlich als flockiges Produkt zur Ausscheidung bringen. Nun haben aber Neuberg und Strauß<sup>2</sup> aus den untersuchten Körpersäften, in denen sie Fruktose nachgewiesen zu haben glauben, das Osazon erst erhalten, nachdem sie das Reaktionsgemisch durch 24 Stunden im Brutschranke bis zu 40° der Einwirkung überlassen hatten. Hierbei bildeten sich in vielen Fällen keine Kristalle, sondern es resultierte ein Öl,

---

<sup>1</sup> Berl. Ber., 37, 4399 (1904).

<sup>2</sup> Zeitschrift für physiol. Chemie, 36, 233 (1902).



aus dem sie erst durch wiederholtes Reiben oder durch Waschen und nachheriges Trocknen im Vakuum, durch Lösen in Alkohol und Behandlung in einem Kältegemisch von fester Kohlensäure und Äther das Osazon zu isolieren vermochten.

Und eben dieses, nach Neuberg und Strauß am sichersten zum Ziele führende Verfahren, ist es gewesen, das berechtigten Zweifel in mir wachgerufen und mich veranlaßt hat, diese Reaktion als unsicher hinzustellen, da sie in einer von der wirklich beweiskräftigen Form so abweichenden Weise gehandhabt wird. Ich hatte mich jedoch mit der Feststellung der Tatsache begnügt, daß auch aus Glukose das Methylphenylhydrazon gewonnen werden kann, daß somit der Neuberg'sche Satz, sekundäre Osazone könnten ausschließlich aus Ketosen, aber nicht aus Aldosen entstehen, unrichtig ist, habe es aber weiter nicht mehr als meine Aufgabe betrachtet, das von Neuberg und Strauß für analytische Zwecke empfohlene Verfahren auf seine Zuverlässigkeit eingehender zu prüfen.

Trotz der von mir festgestellten Tatsachen hält aber Neuberg<sup>1</sup> die von ihm und Strauß angegebene und bereits in mehreren praktischen Fällen zum Nachweis der Fruktose angewendete Methode als vollkommen eindeutig aufrecht, indem er sich vor allem darauf beruft, ich wäre auf einem anderen Wege und nicht unter Beobachtung der von ihm gegebenen Vorschrift zu meinen Resultaten gelangt. Dieser Umstand hat mich veranlaßt, der Frage wieder näher zu treten und das Neuberg-Strauß'sche Verfahren zu überprüfen. Hierbei habe ich nun die Überzeugung gewonnen, daß dasselbe in jener Gestalt, welche in der Arbeit »Über Vorkommen und Nachweis von Fruchtzucker in den menschlichen Körpersäften«<sup>2</sup> von den beiden Forschern angewendet wurde, ganz unzuverlässig, daher unbrauchbar ist.

Wie aus meinen weiter unten ausführlich beschriebenen Versuchen zu ersehen ist, kann man auch bei genauer Befolgung der von Neuberg und Strauß für physiologische Zwecke

---

<sup>1</sup> Berl. Ber., 37, 4616 (1904).

<sup>2</sup> L. c.

empfohlenen Bedingungen, der Reaktionsdauer und Temperatur, insofern die Konzentrationsverhältnisse<sup>1</sup> günstig sind, aus Glukose das Methylphenylosazon isolieren und dies nicht nur nach Verlauf der von diesen Forschern für Fruktose festgestellten Zeit von 24 Stunden, sondern in vielen Fällen sogar schon nach einer 16stündigen Reaktionsdauer, während hiezu bei Zimmertemperatur, wie ich schon oben gezeigt habe, ungefähr 3 Tage erforderlich sind.

Bevor ich jedoch zu dem experimentellen Teile meiner Abhandlung übergehe, möchte ich mir zur Erklärung des bei der Bildung des Methylphenylosazons der Glukose stattfindenden Vorganges einige Bemerkungen erlauben.

In der Abhandlung I<sup>2</sup> habe ich es nicht unterlassen, darauf aufmerksam zu machen, daß unter sonst gleichen Umständen die Fruktose das Methylphenylosazon viel schneller und in bedeutend größerer Ausbeute zu bilden im stande ist als die Glukose. Dieser Unterschied ist besonders augenfällig, wenn die Parallelversuche bei Zimmertemperatur ausgeführt werden, wie ich oben bereits erwähnt habe.

In diesem Umstande glaubt Neuberg einen Grund für die Annahme zu finden, daß die Osazonbildung mit Methylphenylhydrazin doch nur eine Ketosenreaktion sei, indem sich nämlich die Glukose vorher in Fruktose umlagere, wie dies nicht nur bei Gegenwart von verdünnten Alkalien,<sup>3</sup> sondern auch von Acetaten, Neutralsalzen und Phenylhydrazin möglich ist<sup>4</sup> und daß erst die durch Umlagerung gebildete Fruktose in

---

<sup>1</sup> Bezüglich der einzuhaltenden Konzentration geben Neuberg und Strauß keine Vorschrift.

<sup>2</sup> L. c.

<sup>3</sup> Lobry de Bruyn und A. van Ekenstein, *Rec. Pays-Bas* 14, 156, 203.

<sup>4</sup> Neuberg bezieht sich hiebei auf die bekannten Versuche Lobry de Bruyn's und A. van Ekenstein's und die weniger bekannten von Prinsen-Geerlig's (*Chem. Zeitung*, 21) und Tanret (*Bl. Soc. chim.*, 27, 392). In den zitierten Arbeiten ist nur von Alkaliacetaten die Rede, deren Wirkung auf OH-Ionen zurückzuführen ist; auch bei dem Phenylhydrazin dürfte dieselbe Erklärung für die umlagernde Wirkung zutreffen. Die Neutralsalze zeigen selbst nach dreistündiger Einwirkung bei 100° geringe Wirkung; es erscheint

Reaktion trete. Für diese Auffassung spreche nämlich die langsame Bildung des Methylphenylglukosazons.

Auch ich habe gleich anfangs an die Möglichkeit einer Umlagerung gedacht und halte eine solche auch jetzt noch für nicht ganz ausgeschlossen, wiewohl ich den Beweis erbracht zu haben glaube, daß sich die Reaktion zum größten Teile in einem anderen Sinne vollzieht. Es steht nämlich fest, daß sich als Zwischenprodukt das Methylphenylhydrazon der Glukose bildet und erst aus diesem das Osazon entsteht. Während nun die Bildung des Hydrazons nur eine kurze Zeit erfordert, denn es läßt sich aus dem Reaktionsgemisch schon nach 1 bis 2 Stunden in der von mir im ersten Teile dieser Abhandlung angegebenen Weise isolieren, bedarf die weitere Reaktion der Osazonbildung einer bedeutend längeren Zeit. Dies zeigt sich deutlich, wenn man auf reines Methylphenylhydrazon der Glukose die entsprechende Menge Methylphenylhydrazin in essigsaurer Lösung einwirken läßt, wie ich bereits bekannt gegeben habe. Es ist sehr unwahrscheinlich, daß etwa das Methylphenylhydrazon der Glukose eine Veränderung in dem Sinne erfährt, daß sich Fruktose bildet und erst aus dieser das Osazon entsteht. Viel wahrscheinlicher ist es dagegen, daß die längere Reaktionsdauer ihren Grund in der verhältnismäßig großen Stabilität des Methylphenylglukosehydrazons und außerdem in einer sterischen Behinderung hat,

---  
nun fraglich, ob diese nicht dem aus dem Glase aufgenommenen Alkali zuzuschreiben ist und ich beabsichtige deshalb, diese Versuche in Platingefäßen zu wiederholen. Nirgends konnte ich aber auch nur eine Andeutung darüber finden, daß eine Umlagerung der in Betracht kommenden Zuckerarten in essigsaurer Lösung von irgend jemand je beobachtet worden wäre. Über die Umwandlung von Glukose in Fruktose unter dem Einflusse stärkerer Salzsäure ist von H. Rosin (Allg. medic. Central-Ztg., Bd. 72, 539, 1903) berichtet worden. Die entstandene Fruktose weist Rosin mittels der Seliwanoff'schen Reaktion nach, die jedoch für diesen Fall nicht beweiskräftig ist. Bekanntlich beruht dieselbe auf der Bildung von Humusstoffen aus Fruktose, welche beim Erhitzen derselben mit Salzsäure schon nach wenigen Sekunden entstehen. Da jedoch auch Glukose bei längerem Erhitzen mit Salzsäure Humusstoffe bildet, so ist es ganz selbstverständlich, daß Rosin einen positiven Ausfall der Seliwanoff'schen Reaktion beobachten mußte, auch wenn Fruktose nicht gebildet worden ist.

denn bei diesem Hydrazon muß zum Zwecke der Osazonbildung der Hydrazinrest an den sekundären Kohlenstoff treten, der dem endständigen benachbart ist, während beim Fruktosemethylphenylhydrazon der leichter zugängliche endständige Kohlenstoff in Aktion tritt, weshalb sich aus diesem stereochemischen Grunde die Osazonbildung der Fruktose leichter vollziehen muß. Auch der allmähliche Zuwachs der Osazonmenge (bei der Abscheidung mit Äther und Ligroin) muß nicht unbedingt seine Ursache in einer allmählichen Umlagerung haben. Ist es doch in der organischen Chemie eine sehr häufige Erscheinung, daß die Ausbeute an Reaktionsprodukten durch längeres Stehenlassen des Reaktionsgemisches vergrößert wird, wenn man es nicht mit Ionenreaktionen zu tun hat. Übrigens halte ich es für viel wahrscheinlicher, daß es sich in diesem Falle nur um eine allmähliche Abscheidung des bereits gebildeten Osazons handelt, bewirkt durch die hindernde Gegenwart der Nebenprodukte. Es vollzieht sich daher die Reaktion zum größten Teile nicht in dem Sinne »Glukose—Fruktose—Osazon«, sondern »Glukose—Glukosehydrazon—Osazon«. Dabei ist es natürlich immerhin möglich, daß sich trotzdem ein kleiner Teil der Glukose, wenn auch der größte in das Hydrazon übergeht, im Sinne einer Nebenreaktion in Fruktose umlagert.

Wenn es mir aber auch nicht gelungen wäre, den Vorgang der langsameren Osazonbildung der Glukose auf andere Weise zu erklären als durch Annahme einer vorhergehenden Umlagerung der Glukose in Fruktose, so wäre die Neuberg-Strauß'sche Methode zum Nachweis des Fruchtzuckers doch von vornherein zu verwerfen: Dürfte man aus der Bildung des Methylphenylosazons, das bei erhöhter Temperatur erst nach 24stündiger Reaktionsdauer entstanden ist, mit Bestimmtheit auf ursprünglich vorhanden gewesene Fruktose schließen? Wäre nicht vielmehr eher anzunehmen, daß in diesen Fällen Glukose vorhanden gewesen ist, die sich in Fruktose umgewandelt hat? Dies um so mehr, als Neuberg und Strauß die mit Methylphenylhydrazin versetzte Zuckerlösung durch einige Stunden stehen lassen und erst dann mit Essig-

säure ansäuern und in den Brutschrank stellen, um sie nun einer weiteren 24stündigen Einwirkung zu überlassen.

Wie in dem experimentellen Teile dieser Abhandlung gezeigt wird, genügt schon die Zeit von 24 Stunden (bisweilen eine noch viel kürzere Zeit), um aus Glukoselösungen das Osazon zu erhalten.

Wenn Neuberg die Isolierung des Osazons in Versuchen mit Glukose, bei 24stündigem Erwärmen im Brutschrank auf 40°, nicht gelungen ist, so hängt der negative Ausfall seiner Versuche nicht damit zusammen, daß die Glukose eine Aldose ist. Neuberg hat vielmehr nur nicht erkannt, wie sehr es bei diesem Verfahren auf die Konzentrationsverhältnisse bei den verschiedenen Temperaturen bis zu 40° ankomme. Bei entsprechender Rücksichtnahme auf diesen Umstand erhält man aus Glukose auf dem von ihm und Strauß vorgeschriebenen Wege stets positive Resultate, d. h. eine beträchtliche, wenn auch von der theoretischen Menge entfernte, Ausbeute an Osazon.

Das von Neuberg und Strauß<sup>1</sup> angewendete Verfahren zum Nachweis des Fruchtzuckers in den menschlichen Körper-säften sei hier in seinen wesentlichsten Zügen wiedergegeben: Die von den Eiweißkörpern und Salzen zum größten Teile befreite alkoholische Lösung wird auf ein kleines Volumen (ungefähr 30 *cm*<sup>3</sup>) verdampft (es wird hiebei, wie schon oben erwähnt wurde, von einer Rücksichtnahme auf die Konzentration der Zuckerlösung nichts gesprochen) und, mit der entsprechenden Menge Methylphenylhydrazin versetzt, einige Stunden stehen gelassen und nötigenfalls filtriert. Hierauf erfolgt der Zusatz der entsprechenden Menge 50prozentiger Essigsäure und eventuell von so viel Alkohol, daß eine klare Lösung entsteht. Diese wird nun 24 Stunden lang im Brutschrank auf 40° (an einem anderen Orte<sup>2</sup> heißt es, bis höchstens 40°) erwärmt. Bei größeren Mengen Fruchtzucker scheidet sich das Osazon direkt kristallinisch, eventuell nach Zusatz von etwas Wasser ab. Bei geringeren Mengen erhält

---

<sup>1</sup> L. c.

<sup>2</sup> Berl. Ber., 37, 4616 (1904).

man das Osazon auf Wasserzusatz zunächst als Öl, das bei öfterem Reiben, eventuell nach Impfung fest wird. Um schneller zum Ziele zu gelangen, wird das freiwillig oder durch Wasserzusatz ausgeschiedene ölige Methylphenylosazon durch Abgießen von der Mutterlauge getrennt und nochmals durch Dekantieren mit kaltem Wasser gewaschen, hierauf im Vakuum über konzentrierter Schwefelsäure getrocknet, das resultierende Harz in absolutem Alkohol gelöst und in eine Kältemischung aus Äther und fester Kohlensäure gestellt. Das ausgeschiedene Osazon wird aus stark verdünntem Pyridin umkristallisiert.

Bei den von mir nach dieser Vorschrift ausgeführten Versuchen habe ich einerseits in vielen Fällen aus Glukoselösungen das Osazon zu isolieren vermocht, andererseits aber auch die Wahrnehmung gemacht, daß selbst reine Fruktoselösungen mit Rücksicht auf die prozentische Ausbeute an Osazon die verschiedensten Verhältnisse aufweisen (die Zahlen schwanken zwischen 0 und 60%), so daß mitunter aus Fruktoselösungen unter Befolgung obiger Vorschrift kein Osazon erhalten werden kann. Letzteres ist gewöhnlich der Fall, wenn eine stärker konzentrierte Lösung von Fruktose durch 24 Stunden einer Temperatur von 40° ausgesetzt wird. In diesen Fällen scheidet sich das Osazon nach ungefähr 5 Stunden kristallinisch aus, zersetzt sich jedoch bei weiterer Einwirkung zu einem dunklen Öle, aus dem sich nur sehr wenig oder gar nichts mehr isolieren läßt. Hat man daher das Stadium der kristallinischen Abscheidung des Osazons übersehen, indem man die Lösung, der Vorschrift gemäß, erst nach 24 Stunden aus dem Brutschrank oder Thermostaten herausgeholt hat, so kann es vorkommen, daß man in dem ausgeschiedenen Öle kein Osazon nachweisen kann, wiewohl in der ursprünglichen Lösung sehr viel Fruktose vorhanden war. Im allgemeinen läßt sich je nach dem Grade der Zersetzung des Öls mehr oder weniger Osazon isolieren. Scheidet sich, wie dies auch Neuberg beobachtet hat, bisweilen aus der klaren Lösung das Öl erst bei Wasserzusatz aus, so liegt dies vor allem an der etwas größeren Alkoholmenge, die es in Lösung gehalten hat.

Die Behandlung des Öls zum Zwecke der Gewinnung des Osazons erfolgt, nach Neuberg, entweder durch öfteres Reiben, wobei das Öl fest wird, oder durch Waschen, Trocknen über konzentrierter Schwefelsäure und schließliches Lösen in absolutem Alkohol und Ausscheidung aus letzterem in einem Kältegemisch aus fester Kohlensäure und Äther. Ich habe diese beiden Arten der Isolierung des in den Ölen enthaltenen Osazons, die ich aus Glukoselösungen erhalten hatte, mit positivem Resultat erprobt, habe mich aber in der Regel der ersteren bedient, weil die andere Art, besonders bei Verarbeitung eines schon ziemlich stark zersetzten Öls, mit größeren Verlusten verbunden ist.

Das durch längeres Reiben festgemachte Produkt, welches häufig eine gummiartige bis starre Konsistenz annimmt, wird nach Abgießen des Wassers mit Äther versetzt und in demselben zerrieben, abfiltriert und nochmals in Äther digeriert. Das in Form eines gelbbraunen Pulvers erhaltene Osazon kristallisiert aus verdünntem Pyridin in gelbbraunen Nadeln aus.

Untersucht wurden Lösungen reiner Glukose, neben denen häufig gleichzeitig Parallelversuche mit Fruktose angestellt wurden, ferner Gemische von Glukose und Fruktose, normaler Harn, dem in dem einen Falle Glukose, in dem anderen Fruktose zugesetzt wurde, schließlich Diabetesharn, der frei von Fruktose gewesen ist.

#### A. Lösungen reiner Glukose.

I. 2 g Glukose wurden in 30  $cm^3$  Wasser gelöst, mit 4·2 g Methylphenylhydrazin, 4·2  $cm^3$  (50prozentiger) Essigsäure und 5  $cm^3$  Alkohol versetzt, worauf die klare Lösung im Thermostaten durch 24 Stunden bei 37° im geschlossenen Kölbchen stehen gelassen wurde. Nach Ablauf dieser Zeit war etwas Öl ausgeschieden. Die über diesem Öle stehende trübe Flüssigkeit wurde abgegossen, mit etwas Wasser versetzt, wobei eine starke Emulsion entstand, und schließlich nach erfolgter Impfung mit einem Glasstabe energisch gerieben. Nach kurzer Zeit begann die Ausscheidung der rotgelben Osazonkristalle und war in ungefähr 2 Stunden,

während welcher Zeit wiederholt gerieben wurde, beendet. Die Kristalle wurden abfiltriert und getrocknet. Das schon im Thermostaten ausgeschiedene Öl wurde mit Äther digeriert, wobei ebenfalls etwas Osazon resultierte. Die Gesamtausbeute betrug bei diesem Versuche etwas über  $0.8\text{ g}$  (zirka  $19\%$  der Theorie).

II. Dieser Versuch wurde unter genau den gleichen Verhältnissen wie der obige ausgeführt, nur wurden diesmal  $2\text{ g}$  Glukose in  $40\text{ cm}^3$  Wasser gelöst. Das Osazon wurde in derselben Weise wie im Versuch I isoliert und ergab eine Ausbeute von  $0.85\text{ g}$  (zirka  $20\%$ ).

III. Eine den obigen Versuchen analog behandelte Lösung von  $1.5\text{ g}$  Glukose,  $30\text{ cm}^3$  Wasser,  $3.2\text{ g}$  Methylphenylhydrazin,  $3.2\text{ cm}^3$  Essigsäure (50prozentig) und  $5\text{ cm}^3$  Alkohol ergab nahezu  $0.8\text{ g} = 27\%$ .

In einem anderen Falle erhielt ich aus  $2\text{ g}$  Glukose in  $35\text{ cm}^3$  ohne Impfung Osazon, welches ich durch öfteres Digerieren mit Äther gereinigt hatte. Da etwas Osazon hiebei in Lösung blieb, betrug die Ausbeute nur zirka  $12\%$ .

IV. An dieser Stelle will ich zwei erwähnenswerte Versuche anführen, bei denen sich das Osazon freiwillig direkt kristallinisch abgeschieden hatte. In diesen Fällen hatte ich die Reaktionsdauer der Neuberg'schen Vorschrift überschritten.

- a) Eine mit I. übereinstimmende Lösung wurde zuerst im Thermostaten bei  $38^\circ$  durch 24 Stunden, hierauf eine gleiche Zeit bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach Verlauf dieser Zeit war neben etwas Öl eine beträchtliche Menge langer, verfilzter Osazonkristalle ausgeschieden. Aus dem mit Äther digerierten Produkte verblieb eine Ausbeute von  $14\%$ .
- b) In diesem Falle hatte ich eine Lösung von  $2\text{ g}$  Glukose in  $35\text{ cm}^3$ , eine zweite von  $2\text{ g}$  Glukose in  $40\text{ cm}^3$  Wasser durch 40 Stunden im Thermostaten bei  $38^\circ$  stehen gelassen. Die Kölbchen enthielten nach dieser Zeit kristallinisches Osazon ( $17\%$  beziehungsweise  $19\%$ ).



Ungünstiger gestaltete sich die Isolierung des Osazons bei ungefähr zweifacher Konzentration und einer Erhöhung der Temperatur:

V. 3·6 g Glukose wurden in 30  $cm^3$  Wasser gelöst, mit 7·5 g Methylphenylhydrazin, 7·5  $cm^3$  50prozentiger Essigsäure und 5  $cm^3$  Alkohol versetzt, worauf die Lösung im verschlossenen Kölbchen durch 24 Stunden im Thermostaten bei 40° stehen gelassen wurde. Schon nach 16 Stunden war ein dunkles Öl ausgeschieden, das sich in den weiteren Stunden etwas vermehrt hat, aber auch stärker zersetzt gewesen ist. Das Öl wurde gewaschen, im Vakuum über konzentrierter Schwefelsäure getrocknet, hierauf in absolutem Alkohol gelöst und in ein Kältegemisch aus fester Kohlensäure und Äther gestellt, wobei ein Teil des Osazons auskristallisierte, während der größere Teil in Lösung blieb und durch Abdunsten des Alkohols und Digerieren des getrockneten Produktes mit Äther teilweise isoliert wurde. Gesamtausbeute 1 g (= zirka 13%) Osazon.

Aus verdünnter Pyridinlösung umkristallisiert, nahm das Osazon die Form gelblichbrauner Nadeln an (Schmelzpunkt 140 bis 148°).

VI. Dieser Versuch war eine Wiederholung des unter V. angegebenen, jedoch bei etwas tieferer Temperatur (37 bis 38°). Die vom Öle abgegossene trübe Mutterlauge wurde mit dem Waschwasser des Öls vereinigt und lieferte nach öfterem Reiben kristallinisches Osazon in Form rotgelber Nadeln. Das Öl selbst wurde nach dem Dekantieren mit Wasser und öfterem Reiben über konzentrierter Schwefelsäure getrocknet und hierauf mit Äther digeriert, filtriert und nochmals mit Äther behandelt. Ausbeute im ganzen 1·2 g (ungefähr 15%).

VII. In diesem Falle wurde das gleiche Reaktionsgemisch wie bei den zwei vorhergehenden Versuchen einer nur 18stündigen Einwirkung bei 40° überlassen. Das ausgeschiedene Öl wurde mit Wasser durch Dekantation gewaschen und erstarrte nach längerem Reiben unter Wasser. Nachdem das Wasser abgegossen, wurde das feste Produkt direkt mit Äther behandelt und ergab 0·7 g (= 9%) Osazon. Eine andere, ganz gleich

behandelte Lösung ergab schon nach 15 Stunden ungefähr die gleiche Menge Osazon.

VIII. In diesem Falle habe ich bei einer stärkeren Konzentration (3·6 g Glukose in 20  $cm^3$  Wasser und 10  $cm^3$  Alkohol) bei 40°, nach 24 Stunden ein schwarzes Öl erhalten, das nicht festzumachen war und kein Osazon geliefert hat.

IX. Unter Anwendung der gleichen Konzentrationsverhältnisse wie in VIII. (also bei 30  $cm^3$  der alkoholischen Lösung, wie es in der Vorschrift lautet) erhielt ich dagegen aus 3·6 g Glukose 1·3 g (= 17%) Osazon, indem ich das Reaktionsgemisch durch 24 Stunden auf nur 30° erwärmte. Da sich wenig Öl freiwillig ausgeschieden hatte, wurde Wasser zugesetzt. Ohne die Mutterlauge abzugießen, wurde mit dem Glasstabe gerieben, worauf sich nach einiger Zeit das feste Produkt bildete, welches wie bei den obigen Versuchen mit Äther behandelt wurde.

In einem anderen Falle wurde unter den gleichen Umständen (ebenfalls bei 30°) ungefähr 15% Osazon erhalten.

In einem dritten Falle war die Lösung klar geblieben, ergab aber, mit Wasser versetzt, eine Emulsion und etwas Öl. Bei starkem Reiben resultierte nach einiger Zeit ein festes Produkt, aus dem nach Behandlung mit Äther 0·7 g (zirka 9%) Osazon gewonnen wurde.

X. Bei noch stärkerer Konzentration (1·8 g Glukose, 5  $cm^3$  Wasser, 5  $cm^3$  Alkohol) erhielt ich nach 24stündigem Erwärmen bei 30° sehr dunkles Öl, aus dem sich 6·5% Osazon gewinnen ließ. Ein anderer Versuch, bei welchem ich statt 5  $cm^3$  Alkohol 12  $cm^3$  angewendet habe, ergab 4·6% Osazon.

Die eben angeführten Versuche lassen erkennen, daß für die Darstellung des Methylphenylosazons aus Glukose, bei einer Reaktionsdauer von 24 Stunden, die Temperatur von ungefähr 37° sowie eine Konzentration, bei welcher auf 1 Teil Glukose 20 Teile Wasser entfallen, die besten Resultate erzielen lassen. Die angewandte Alkoholmenge war in diesen Fällen eine geringe. Bei starken Konzentrationen und einer Temperatur von 40° resultiert gewöhnlich ein stark zersetztes, öliges Produkt, aus welchem sehr wenig oder gar kein Osazon zu gewinnen ist.

**B. Versuche mit reiner Fruktose.**

I. 3·6 g Fruktose, gelöst in 20  $cm^3$  Wasser, versetzt mit 7·5 g Methylphenylhydrazin, 7·5  $cm^3$  50prozentiger Essigsäure und 5  $cm^3$  Alkohol, ergaben bei 30° schon nach einer Stunde eine starke Trübung und Ölabscheidung. Bei der Besichtigung nach 15 Stunden fand ich das Kölbchen mit Osazonkristallen ganz erfüllt vor. Nach Verlauf von 24 Stunden der gesamten Reaktionsdauer erhielt ich eine Ausbeute von 58%.

Ein anderer, ganz analoger Versuch lieferte 57%.

II. Ungünstiger gestaltete sich die Ausbeute, als ich 1·8 g Fruktose in 30  $cm^3$  Wasser gelöst hatte und nach dem Versetzen mit 4 g Methylphenylhydrazin, 4  $cm^3$  Essigsäure (50%) und 12  $cm^3$  Alkohol bei 30° durch 24 Stunden erwärmte. Ausbeute 23%. Ein Parallelversuch mit Glukose ergab nur äußerst wenig Osazon.

III. Dagegen erhielt ich bei starker Konzentration (1·8 g Fruktose in 5  $cm^3$  Wasser und 5  $cm^3$  [beziehungsweise 12  $cm^3$ ] Alkohol) aus dem dunklen, teerigen Öle nach 24 Stunden bei 30° kein Osazon, während Glukose unter den gleichen Verhältnissen (siehe A, X) 6·5% (beziehungsweise 4·6%) ergeben hat.

IV. 1·8 g Fruktose in 30  $cm^3$  Wasser mit 4 g Methylphenylhydrazin, 4  $cm^3$  50prozentiger Essigsäure und 7  $cm^3$  Alkohol versetzt, zeigte bei 40°, nach 7 Stunden besichtigt, eine dichte Kristallmasse, die nach Verlauf der 24stündigen Erwärmungsdauer schon ein wenig zersetzt war. Ausbeute ungefähr 50%.

V. 3·6 g Fruktose, gelöst in 8  $cm^3$  Wasser, versetzt mit 8  $cm^3$  Alkohol, 8 g Methylphenylhydrazin und 8  $cm^3$  50prozentiger Essigsäure, wurden auf 40° erwärmt. Diese ziemlich stark konzentrierte Lösung war nach 5 Stunden ganz von Osazonkristallen erfüllt, die sich jedoch bei weiterer Einwirkung allmählich zersetzten, so daß nach 24 Stunden nur ein dunkles Öl resultierte, aus dem gar kein Osazon zu gewinnen

Tabellarische Zusammenstellung der obigen Versuche mit besonderer Berücksichtigung der Konzentration des in Wasser gelösten Zuckers.<sup>1</sup>

Versuchszahl	Zucker	Wasser in Kubik- zentim- etern	Konzentration Zucker : Wasser	Alkohol in Kubik- zentimetern	Temperatur in Graden Celsius	Stunden	Prozen- tische Ausbeute <sup>2)</sup>	Bemerkungen
A, I	Glukose 2 g	30	1 : 15	5	37	24	19	Nach Wasserzusatz, Impfen und Reiben direkt kristallisiertes Osazon.
	» 2 g	40	1 : 20	5	37	24	zirka 20	
III	» 1.5 g	30	1 : 20	5	37	24	» 27	Nach Wasserzusatz, Impfen und Reiben direkt kristallisiertes Osazon (geringere Verluste).
	» 2 g	35	1 : 17.5	5	37	24	12	
IV, a)	» 2 g	30	1 : 15	5	37	24 Stunden im Thermo- staten, 24 Stunden bei Zimmer- temperatur	14	Freiwillig ausgeschiedenes kristallisiertes Osazon.
	» 2 g	35	1 : 17.5	5	38	40	17	
b)	» 2 g	40	1 : 20	5	38	40	19	

V	» 3·6 g	30	1:8·3	5	40	24	zirka 13	Gewonnen aus dem dunklen Öle.
VI	» 3·6 g	30	1:8·3	5	37—38	24	» 15	Durch Reiben kristallisiertes Osazon.
VII	» 3·6 g	30	1:8·3	5	40	18	» 9	Aus dem Öle gewonnen.
	» 3·6 g	30	1:8·3	5	40	15	» 9	
VIII	» 3·6 g	20	1:5·5	10	40	24	0	—
IX	» 3·6 g	20	1:5·5	10	30	24	17	Bei 30° ist daher aus Glukose auch in starker Konzentration derselben Osazon isolierbar.
X	» 1·8 g	5	1:2·8	5	30	24	6·5	
	» 1·8 g	5	1:2·8	12	30	24	4·6	
B. I	Fruktose 3·6 g	20	1:5·5	5	30	24	58	—
II	» 1·8 g	30	1:16·7	12	30	24	23	—
III	» 1·8 g	5	1:2·8	5 (12)	30	24	0	—
IV	» 1·8 g	30	1:16·7	7	40	24	50	—
V	» 3·6 g	8	1:2·2	8	40	24	0	—

1 Die relativen Verhältnisse des Zuckers zu dem angewendeten Methylphenylhydrazin und der 50 prozentigen Essigsäure blieben bei allen Versuchen dieselben.

2 Der Berechnung der prozentischen Ausbeuten wurde stets die nach der Reaktionsgleichung theoretisch mögliche Menge zu Grunde gelegt, während Neuberg und Strauß die Osazonmenge mitunter auf die unter den günstigsten Bedingungen zu erhaltende Maximalausbeute (81%) der theoretischen (= 100) bezogen haben.

war. Das Öl löste sich nach längerem Reiben vollständig in Äther auf.

Aus diesen Versuchen ist zu ersehen, daß Fruktose, unter günstigen Bedingungen, nach 24-stündiger Reaktionsdauer eine bedeutend bessere Ausbeute liefert als Glukose, daß sie in stark konzentrierten Lösungen schon in kurzer Zeit Osazon bildet, welches jedoch nach 24-stündiger Einwirkung vollständig zersetzt ist. Unter den letzteren Verhältnissen ist somit bei Beobachtung der Vorschrift von Neuberg und Strauß selbst aus Fruktose nach 24-stündiger Erwärmung kein Osazon zu erhalten.

### C. Lösungen mit Glukose und Fruktose.

I. 1.3 g Glukose und 0.5 g Fruktose wurden in 15  $cm^3$  Wasser gelöst, mit 10  $cm^3$  Alkohol, 4 g Methylphenylhydrazin und 4  $cm^3$  50prozentiger Essigsäure versetzt und im Brutschrank auf 40° durch 24 Stunden erwärmt. Das ausgeschiedene Öl wurde mit Wasser dekantiert, geimpft, im Vakuum über konzentrierter Schwefelsäure getrocknet, in absolutem Alkohol gelöst und in ein Kältegemisch von fester Kohlensäure und Äther gestellt. Es schied sich jedoch kein Osazon aus.

II. 1.8 g Glukose + 1.8 g Fruktose wurden in 20  $cm^3$  Wasser (1:5.5) gelöst, mit 13  $cm^3$  Alkohol und den molekularen Mengen von Methylphenylhydrazin und 50prozentiger Essigsäure versetzt und durch 24 Stunden auf 40° erwärmt. Aus dem dunklen Öle war kein Osazon isolierbar.

III. Aus einer Mischung von 0.9 g Glukose und 0.9 g Fruktose, gelöst in 10  $cm^3$  Wasser, schied sich bei Zimmertemperatur erst nach 15 Stunden kristallinisches Osazon freiwillig aus, während das, bei Abwesenheit von Glukose, aus einer Lösung von 0.9 g Fruktose und ebenso aus 1.8 g Fruktose in 10  $cm^3$  Wasser ausgeschiedene Öl, schon nach 4 bis 5 Stunden zu Osazonkristallen erstarrt war.

IV. Eine Verzögerung der freiwilligen Fruktosazonausscheidung bei Zimmertemperatur zeigte sich auch bei einem Gemisch von 1.3 g Glukose und 0.5 g Fruktose in 10  $cm^3$

Wasser, doch läßt sich die Abscheidung durch Reiben und Impfung, eventuell nach Wasserzusatz schon nach 5 Stunden erzielen.

#### **D. Normaler Harn, mit Zucker versetzt.**

I. 200  $cm^3$  normalen Harnes wurden in frischem Zustande mit etwas Essigsäure angesäuert, mit 4 g Glukose versetzt und im Vakuum bei niedriger Temperatur zu einem dünnen Sirup eingedampft. Dieser wurde nach Neuberg's Vorschrift mit Alkohol aufgeköcht, filtriert, mit Tierkohle behandelt und auf 30  $cm^3$  eingengt. Nach Zusatz von 8·5 g Methylphenylhydrazin wurde die Lösung durch 5 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen, filtriert, mit 8·5  $cm^3$  50prozentiger Essigsäure und 20  $cm^3$  Alkohol versetzt und in dem Thermostaten bei 30° stehen gelassen. Nach 24 Stunden wurde die, infolge der etwas größeren Alkoholmenge klar gebliebene, Lösung mit Wasser versetzt und längere Zeit gerieben. Nach 2 Stunden wurde filtriert und das Produkt mit Äther zweimal digeriert. Ausbeute 8 $\frac{0}{0}$ .

II. Ein ganz gleich ausgeführter Versuch mit 4 g Fruktose ergab ein dunkles Öl, aus welchem an Osazon nur 16 $\frac{0}{0}$  der Theorie isoliert wurden.

#### **E. Diabetesharn.**

I. Dieser Harn ergab bei der Polarisation einen Gehalt von 7·1 $\frac{0}{0}$  Traubenzucker, die Titration mit Fehling'scher Lösung zeigte 7·5 $\frac{0}{0}$  reduzierender Substanz, die Polarisation nach erfolgter Gärung 0·1° Linksdrehung. Es war daher kein Fruchtzucker vorhanden.

Von diesem Harne, der sofort nach der Ausscheidung angesäuert worden war, wurden zwei Portionen von je 160  $cm^3$  im Vakuum unter 40° eingedampft, der sauer reagierende dünnflüssige Sirup nach der Vorschrift weiter behandelt. Die resultierende alkoholische Lösung von 30  $cm^3$  Volumen, enthaltend ungefähr 12 g Glukose, wurde mit der entsprechenden Menge Methylphenylhydrazin und 50prozentiger Essigsäure versetzt und durch 24 Stunden auf 30° erwärmt. Durch Wasser-

zusatz wurde das Öl ausgefällt, durch längeres Reiben festgemacht und mit Äther behandelt. Aus der einen Portion erhielt ich 3 g Osazon, die vom Öle abgegossene Mutterlauge lieferte nach einiger Zeit noch ungefähr 0.7 g Osazon. Im ganzen 14.5% der Theorie. Die andere Portion zeigte die gleichen Verhältnisse und gab ebenfalls die gleiche Ausbeute.

Bei 40° würde dagegen nach den obigen Versuchen die gleiche Konzentration ebenso für Fruktose wie für Glukose ein negatives Resultat ergeben. So erhielt ich schon bei einer mäßigeren Konzentration einer in analoger Weise aus Diabetes-harn gewonnenen alkoholischen Lösung von 33 cm<sup>3</sup>, enthaltend 7.6 g Glukose, bei 40° ein dunkles Öl, aus dem sich nur eine Spur Osazon isolieren ließ.

II. Ein anderer Harn, der bei der Polarisation 6.1% Traubenzucker zeigte, bei der Titration 6.6% ergab und nach der Gärung 0.2° links drehte, wurde entsprechend behandelt, so daß schließlich eine ungefähr 4.5 g Glukose enthaltende alkoholische Lösung von 53 cm<sup>3</sup> resultierte, welche, nach Zusatz der entsprechenden Mengen Methylphenylhydrazin und Essigsäure auf 40° erwärmt, schon nach 16 Stunden ein Öl ergab, aus dem 0.9 g = 10% Osazon gewonnen wurden.

III. Eine zweite Probe dieses Harnes mit 3 g Glukose in 35 cm<sup>3</sup> einer wenig Alkohol enthaltenden Lösung, gab nach 24 Stunden bei 37° zirka 0.72 g = 11% Osazon. Auch hier schied sich aus der vom Öle abgegossenen Flüssigkeit nach einiger Zeit kristallinisches Osazon aus, ohne daß geimpft worden wäre.

---

Die Ergebnisse der obigen Versuche sind im nachstehenden zusammengefaßt:

I. Die Osazonbildung mittels Methylphenylhydrazin ist nicht ausschließlich eine Ketosenreaktion:

- a) Glukose bildet gleichfalls Methylphenylosazon, und zwar zum größten Teile auf dem Wege über das Hydrazon und nicht nach vorhergegangener Umlagerung in Fruktose.
- b) Die Bildung des Methylphenylosazons aus der Fruktose geht schneller und in besserer Ausbeute vor sich als aus



der Glukose, weil das Fruktosehydraxon von Hydrazinbasen bedeutend leichter angegriffen wird als das Hydraxon der Glukose.<sup>1</sup>

II. Das von Neuberg und Strauß angegebene Verfahren zum Nachweis von Fruchtzucker in menschlichen Körpersäften ist unzuverlässig und unbrauchbar, denn

- a) auch Glukose gibt bei Anwendung dieses Verfahrens das Osazon in ziemlich beträchtlicher Ausbeute;
- b) nimmt man bei der Osazonbildung aus Glukose bei Zimmertemperatur eine vorausgehende Umlagerung in Fruktose an, so muß dies um so mehr bei diesem Verfahren geschehen, da sich eine Umlagerung bei erhöhter Temperatur in viel höherem Maße vollzieht;
- c) auf die Konzentration der Zuckerlösung, von der die Ausbeute abhängig ist, wird von Neuberg und Strauß keine Rücksicht genommen;
- d) Fruktose gibt zwar das Osazon auch bei ungeeigneter Konzentration, doch bewirkt letztere, daß es sich innerhalb der 24stündigen Reaktionsdauer wieder zersetzt, so daß, auch bei genauer Beobachtung der Vorschrift, aus Fruktoselösungen eventuell schließlich kein Osazon isoliert werden kann.

III. Beweisend für Fruktose ist die Abscheidung des Methylphenylosazons nur dann, wenn sie bei Zimmertemperatur in zirka 5 Stunden erfolgt ist. Die Gegenwart größerer Mengen Glukose beeinträchtigt die Geschwindigkeit der freiwilligen Abscheidung.

IV. Es erscheint keineswegs ausgeschlossen, ja es ist sogar wahrscheinlich, daß die von Neuberg und Strauß untersuchten Körpersäfte Glukose, nicht aber Fruktose enthalten haben. Jene zuckerhaltigen Lösungen aber, aus welchen von den genannten Forschern Osazon nicht isoliert werden konnte, dürften das negative Resultat wohl infolge ungünstiger Konzentrationsverhältnisse ergeben haben.

-----

<sup>1</sup> Nach Maquenne (C. r. 112, 799) gibt Fruktose auch mit Phenylhydrazin mehr als doppelt soviel Osazon, wie Glukose.

---

Zum Schlusse spreche ich meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Guido Goldschmiedt, für die mir bei der Durchführung dieser Arbeit durch vielfache Anregungen und Ratschläge erwiesene Unterstützung meinen besten Dank aus.

### Nachschrift.

Während der Korrektur vorstehender Abhandlung erschien in der »Zeitschr. für ang. Chemie« (Jahrg. 18, 982, 1905), ein kurzes Referat über einen von Ost auf der Hauptversammlung des »Vereines deutscher Chemiker« zu Bremen gehaltenen Vortrag »Umwandlung der Dextrose in Lävulose und Nachweis der Lävulose«. Hienach würde Dextrose, in 40—50% iger Schwefelsäure satt gelöst, neben anderen Umwandlungsprodukten auch 5—10% Lävulose liefern. Bezüglich der Anwendung von Methylphenylhydrazin zum Nachweise der Lävulose bestätigt Ost meine Erfahrungen.

3. Juli 1905.