

Ueber die Bildung von Lävulinsäure, eine
Reaction aller wahren Kohlenhydrate;von Dr. C. *Wehmer* und B. *Tollens*.

(Eingelaufen den 1. October 1887.)

Die Kennzeichen der Glycosen, 1) Gährfähigkeit mit Hefe, 2) optische Activität, 3) Reductionsvermögen gegen Fehling'sche Lösung, 4) Gelbfärbung mit Alkalien, 5) Phenylhydrazinreaction, 6) Farbenreactionen mit aromatischen Alkoholen und Säuren, mit Diazobenzolschwefelsäure u. s. w., sind, wenn ein Körper sie alle besitzt, unzweifelhafte Beweise, dafs die betreffende Substanz ein Kohlenhydrat ist.

Wenn dagegen einige dieser Eigenschaften fehlen (wie Gährfähigkeit bei Arabinose und Sorbin, verschiedene andere bei Inosit) kann man zweifelhaft sein, ob die untersuchten Körper zu den Kohlenhydraten zu zählen sind, denn Reactionen wie z. B. die unter 3, 4, 5 und 6 genannten zeigen auch manche anderen Stoffe.

Wünschenswerth ist eine Reaction, welche einerseits bei *allen Kohlenhydraten* eintritt und andererseits von *keiner anderen ähnlichen Substanz* gezeigt wird, und eine solche Reaction schien nach Beobachtungen, welche besonders von Tollens und verschiedenen Mitarbeitern in den letzten 12 Jahren gesammelt worden sind, diejenige des Erhitzens mit verdünnten Mineralsäuren zu sein; denn in allen bisher untersuchten Fällen haben unzweifelhafte Kohlenhydrate neben Ameisensäure und Huminsubstanz *deutlich nachweisbare Mengen Lävulinsäure* gegeben, welche Conrad und Guthzeit sogar quantitativ bestimmt haben.

So entsteht Lävulinsäure aus Rohrzucker *), Dextrose **), Lävulose **), aus Inulin ***), Stärke ***), Gummi arabicum †), Filtrirpapier †), Tannenholz †), Carragheenmoos †), Lävulin ††), Milchzucker †††), Galactose *), Raffinose **), Irisin ***).

Aus Stoffen, welche den Kohlenhydraten ähnlich sind †), welche dieser Gruppe jedoch nicht angehören, ist *Lävulinsäure* bis jetzt nicht hergestellt worden; so haben nach Hermann und Tollens ††) das *Saccharin* und nach vorläufigen Versuchen von Tollens †††) auch der *Inosit* keine Lävulinsäure beim Kochen mit Säuren gegeben, ebenso wenig

*) v. Grote und Tollens, diese Annalen **175**, 181; Ber. d. deutsch. chem. Ges. **6**, 309; **7**, 1375; Conrad und Guthzeit, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **18**, 439.

) v. Grote, Kehler und Tollens, diese Annalen **206, 228; Ber. d. deutsch. chem. Ges. **10**, 1044; Conrad und Guthzeit, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **19**, 2569.

***) v. Grote und Tollens, diese Annalen **198**, 240; Ber. d. deutsch. chem. Ges. **7**, 1379.

†) Bente, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **8**, 416; **9**, 1158.

††) Dieck und Tollens, diese Annalen **198**, 240.

†††) Rodewald und Tollens, diese Annalen **206**, 131; Conrad und Guthzeit, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **19**, 2575.

*) Kent und Tollens, diese Annalen **227**, 228; Conrad und Guthzeit, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **18**, 2905.

) Rischbiet und Tollens, diese Annalen **232, 193.

***) Wallach, diese Annalen **234**, 369.

†) Stoffe von ganz verschiedenen Eigenschaften, wie der Acetylbernsteinsäureäther, welcher Nöldecke die Lävulinsäure zuerst gegeben hat, und wie die aus Lävulinsäure von Escales und Baumann a), von E. Fischer b), von Ad. Müller c), von Block, Kreckeler und Tollens d) synthetisch erhaltenen Producte kommen hier nicht in Betracht.

a) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **19**, 1795.

b) Dasselbst **16**, 2243.

c) Dasselbst **16**, 1617.

d) Diese Annalen **238**, 287.

††) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **18**, 1333.

†††) Diese Annalen **227**, 229 Anm.

in Tollens' Versuchen *) das aus Formaldehyd hergestellte *Methylanitan* und ferner nach Thierfelder die *Glycuronsäure* **). Endlich verhalten sich Mannit, Dulcit, Quercit indifferent gegen Salzsäure (über Arabinose s. u. S. 333 Anm.).

Um die von Kent und Tollens (a. a. O.) zuerst aufgestellte Vermuthung, dafs die *Bildung von Lävulinsäure eine charakteristische Eigenschaft der Kohlenhydrate ist, welche zur Erkennung der letzteren benutzt werden kann,* näher zu begründen, haben wir folgende Substanzen untersucht :

- A. Substanzen, welche wegen der in ihnen enthaltenen Kohlenhydratgruppen unzweifelhaft die Entstehung von Lävulinsäure erwarten liefsen :

- | | | |
|------------------------|---|----------------|
| 1) Dextrose und Stärke | } | Kohlenhydrate. |
| 2) Sorbose (Sorbin) | | |
| 3) Salicin | } | Glycoside. |
| 4) Amygdalin | | |

- B. Substanzen von gleicher Zusammensetzung wie die Kohlenhydrate, jedoch anderen Eigenschaften :

- 5) Inosit.
- 6) Isosaccharin.
- 7) Methylanitan oder sog. Formose (s. folg. Abh.).

- C. Substanzen von den Kohlenhydraten nahe stehender Zusammensetzung :

- 8) Phloroglucin.

- D. Substanzen, von denen zweifelhaft war, ob sie Kohlenhydratgruppen enthalten :

- 9) Carmin.
- 10) Santonin.
- 11) Gerbsäure (Tannin).

*) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **16**, 920; Landw. Vers. Stat. **29**, 361.

) Zeitschr. f. physiol. Chem. **11, 388.

- E. Eiweifsartige Stoffe :
- 12) Chondrin (Rippenknorpel).
 - 13) Elastin (Nackenband).
 - 14) Casein.
 - 15) Fibrin.
- F. Naturproducte, welche auf Kohlenhydrat geprüft wurden :
- 16) Blut.
 - 17) Normaler Harn.
 - 18) Kartoffelsaft.
- G. Anhang :
- 19) Piperinsäure.

Untersuchungsmethode.

Es sei erlaubt, die Art unseres Arbeitens ziemlich genau zu beschreiben, weil man bei nicht zweckentsprechendem Operiren die entstehenden kleinen Mengen Lävulinsäure leicht übersehen kann.

Die Zerlegung der Substanzen geschah immer unter möglichst gleichartigen Bedingungen und stets mit *Salzsäure*, welche, wie die Versuche von Conrad, sowie von v. Grote und Tollens ergeben haben, energischer als Schwefelsäure die Kohlenhydrate zersetzt. Wir wandten, wenn nichts anderes angegeben ist, stets Salzsäure von 1,19 spec. Gewicht, welche mit gleichem Volum Wasser verdünnt war, also Salzsäure von 1,09 bis 1,10 spec. Gewicht oder gegen 20 pC. HCl-gehalt an.

Die Erhitzung geschah 20 Stunden lang im Wasserbad mit constantem Zufluss und in Kolben mit Kautschukstöpsel und aufgesetztem langen Glasrohr, einzeln auch in Kolben mit angeschmolzenem meterlangen Halse.

Nach dem beendigten Kochen wurde von der Huminsubstanz abfiltrirt und das Filtrat 4 Mal mit dem gleichen Volum

Aether ausgeschüttelt. Vor dem Abdestilliren wurde der Aether durch ein trockenes Filter gegossen, um Spuren wässriger Flüssigkeit zu beseitigen.

Der Destillationsrückstand wurde in einer Porcellanschale $\frac{1}{2}$ bis 1 Stunde auf dem Dampftrockenschrank sich selbst überlassen, so dafs er nicht mehr stark sauer roch, und zuerst sein Verhalten gegen Fehling'sche Lösung, sowie besonders gegen Jod und Natron, geprüft; denn bei nicht eintretender Jodoformbildung ist die Gegenwart von Lävulinsäure ausgeschlossen*), im Fall des Eintretens übrigens keineswegs bewiesen, da die Jodoformreaction bekanntlich vielen anderen Stoffen ebenfalls zukommt.

Zur Ueberführung in das Zinksalz der eventuell vorhandenen Lävulinsäure wird der Rückstand in Wasser gelöst, wenn sehr harz- oder fetthaltig filtrirt, und einige Stunden in mäfsiger Wärme mit etwas überschüssigem Zinkoxyd digerirt.

Das vom Zinkoxyd gewonnene, meist bräunlich gefärbte Filtrat wird mit Thierkohle digerirt und abgedampft, worauf, falls Lävulinsäure vorhanden ist, das Zinksalz zur krystallinischen Masse erstarrt. Es wird mit etwas Aetheralkohol zerrieben, geprefst und dient zur Herstellung des Silberlävulats, welches man aus der concentrirten Lösung des Salzes durch Zusatz von Silbernitrat ausfällt und durch Umkrystallisiren mit Thierkohle reinigt.

Wenn das Zinksalz ziemlich rein war, erhält man gleich die charakteristischen Sechsecke des Silberlävulats, war es weniger rein, so erscheinen statt der Sechsecke die früher mehrfach beschriebenen, z. Th. haarförmig gebogenen Nadeln, und fast regelmäfsig ist letzteres der Fall, wenn durch starke Reduction von Silber die Flüssigkeit erheblich sauer geworden

*) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **14**, 1950.

ist. In vielen Fällen gelingt es dann, nach Zusatz von etwas Ammoniak die Sechsecke zu gewinnen.

Das so erhaltene Salz wird abfiltrirt, geprefst und über Schwefelsäure getrocknet.

Bei diesen Operationen ist zu beachten, dafs die Extraction und Gewinnung der Lävulinsäure aus der Kochflüssigkeit durch Aether nur eine unvollkommene ist, und directe Versuche haben ergeben, dafs von 1 g Lävulinsäure, welche in 100 cbcm Wasser gelöst worden war, sich durch viermaliges Ausschütteln mit je 100 cbcm Aether nur circa $\frac{1}{2}$ g wieder erhalten liefs. Weiter haben wir, wie auch Conrad und Guthzeit gefunden, dafs die abgeschiedene Huminsubstanz noch Lävulinsäure enthält, und wir haben u. a. aus der abgeprefsten Huminsubstanz, welche von 1 kg Rohrzucker herührte, durch Auswaschen, Eindampfen des mit Kalk gesättigten Waschwassers u. s. w., lävulinsaures Zink und schliesslich $5\frac{1}{2}$ g Silberlävulat dargestellt, welches 48,43 pC. Silber enthielt.

Da nun die entstehende Lävulinsäure erstens nur einen Bruchtheil der zersetzten Kohlenhydrate bildet, indem die Huminsubstanzen u. s. w. stets in bedeutender Menge abgeschieden werden, und da zweitens die Gewinnung der Lävulinsäure wenig vollständig ist, so liegt, falls nur wenig Kohlenhydrat in der untersuchten Substanz vorhanden ist, die Gefahr nahe, dafs die entstandene Lävulinsäure übersehen wird, und wir verwahren uns deshalb ausdrücklich gegen definitive Schlüsse darüber, ob sich sehr *geringe Mengen* Lävulinsäure, z. B. aus Eiweifs u. s. w. bilden, indem wir nur aufrecht halten, dafs, wenn wir keine oder nur zweifelhafte Mengen Lävulinsäure gefunden haben, diese Säure (wenn überhaupt) nur *in geringer Menge* aus der untersuchten Substanz entsteht, und zwar in *bedeutend* geringerer Menge als der Fall ist, wenn die Substanz ein Kohlenhydrat, ein Glycosid u. dgl.

ist; denn reine Kohlenhydrate, Glycoside u. s. w. haben uns, wie die folgenden Versuche zeigen, stets mit Leichtigkeit *erhebliche Mengen Lävulinsäure* gegeben.

1) *Dextrose* und *Stärke*.

Zur Prüfung der Methode haben wir je 10 g dieser Substanzen mit 20 g der nach obiger Vorschrift verdünnten Salzsäure 20 Stunden lang erhitzt. Aus der Dextrose wurden 2 g Humin und 1,3 g reines Zinklävulat erhalten.

0,1665 g des daraus gewonnenen Silberlävulats gaben 0,0803 oder 48,20 pC. Ag (berechnet 48,43 pC.).

Aus der Stärke wurden 2,5 g Humin und 2 g rohes Zinklävulat gewonnen, woraus lävulinsaures Silber sich leicht herstellen liefs.

Wie aus 10 g kann man auch, wie verschiedentlich im hiesigen Laboratorium nachgewiesen ist, aus 5 g Dextrose stets leicht und sicher lävulinsaures Silber darstellen.

2) *Sorbose* (Sorbin)*).

Käufliches Sorbin wurde umkrystallisirt.

4,9785 g zu 50 ccm gelöst zeigten im 100 mm Rohr des Halbschattenapparates von Schmidt und Hänsch im Mittel 12,5 Scalentheile Linksdrehung, welche Zahl sich beim Stehen nicht veränderte. Folglich ist $(\alpha)_D = -43,4^\circ$. (Pelouze fand $(\alpha)_r = -35,97^\circ$ und Berthelot $(\alpha)_j = -46,9^\circ$)

3,5 g der reinen großen Krystalle wurden mit 15 g der verdünnten Salzsäure erhitzt. Bald trat Bräunung und Huminscheidung ein, welch' letztere 1,2 g wog. Aus dem Schütteläther wurde nur eine sehr geringe, zur Analyse nicht ausreichende Menge lävulinsaures Silber gewonnen; als jedoch nach längerem Stehen die Flüssigkeit, welche mittlerweile weitere Huminflocken abgeschieden hatte, wieder mit Aether ausgeschüttelt wurde, erhielten wir etwas eines in Nadeln krystallisirten Silbersalzes,

von welchem 0,0650 g 0,0311 g oder 47,85 pC. Silber lieferten.

*) Wir acceptiren den von Scheibler vorgeschlagenen Namen „*Sorbose*“ statt „*Sorbin*“.

Wenn auch dieses Analysenresultat der berechneten Zahl 48,43 pC. sich nähert, so wollen wir doch noch kein ganz definitives Urtheil über die Entstehung von Lävulinsäure äufsern, ehe wir den Versuch mit gröfseren Mengen Sorbin, welche s. Z. nicht zu erhalten waren, wiederholt haben. Jedenfalls spricht der angeführte Versuch nicht dagegen.

3) *Salicin*.

Zum weiteren Prüfen auf Lävulinsäurebildung haben wir die beiden am leichtesten zu beschaffenden Glycoside, *Salicin* und *Amygdalin*, verwandt, welche beim Kochen mit Säure bekanntlich unter Bildung von *Dextrose* zerfallen.

10 g *Salicin* wurden mit Salzsäure erhitzt: das *Salicin* löste sich nicht, ballte sich stark zusammen, und bald zeigte sich eine allmählich zunehmende Bräunung. Nach 7 Stunden wurde die Fehling'sche Lösung stark reducirende Flüssigkeit vom porösen Rückstande (*Saliretin*) abgegossen. Der Destillationsrückstand des Schütteläthers war beträchtlich und an Zinksalz wurden 1,7 g erhalten.

0,1945 g des Silbersalzes gaben 0,0945 Silber oder 48,59 pC. statt der berechneten 48,43 pC. Ag. des lävulinsäuren Silbers.

Bei einem anderen Versuch wurde das *Salicin* erst durch Erwärmen mit Wasser gelöst und dann starke Säure zugesetzt, worauf sich beim Kochen bald der oben beschriebene poröse braune Kuchen ausschied. Letzterer besafs nach dem Zerreiben und Auswaschen mit Wasser lufttrocken ein Gewicht von 7 g, nach dem Digeriren und Auswaschen mit heifsem Alkohol blieben noch 3 $\frac{1}{2}$ g, und die aliholische Lösung liefs eine dunkle amorphe Masse zurück.

4) *Amygdalin*.

5 g *Amygdalin* wurden mit 10 g Wasser und 10 g der verdünnten Salzsäure erhitzt. Die Bräunung erfolgte ziemlich langsam und schliesslich wurden 0,3 g Huminsubstanz erhalten.

Die starke Reductionsfähigkeit, sowie Jodoformreaction

zeigende Kochflüssigkeit wurde in einer Schale bis zum Verschwinden des Bittermandelgeruchs erwärmt. Das aus dem Schütteläther erhaltene Zinksalz war unansehnlich, und nur wenig Silbersalz wurde erhalten.

0,0944 g gaben 0,0460 g oder 48,73 pC. Silber, statt der berechneten 48,43 pC. Ag.

5) *Inosit.*

Inosit hat Tollens *) schon mit negativem Resultat mit Salzsäure behandelt; es schien jedoch, da jener Versuch nur einmal angestellt war, angezeigt, die Operation zu wiederholen.

5 g Inosit vom Schmelzpunkt 215⁰, welcher im hiesigen Laboratorium aus Bohnen hergestellt war, wurden mit 30 g verdünnter Salzsäure erhitzt, wodurch wenig Veränderung hervorgebracht wurde.

Der geringe Destillationsrückstand des Schütteläthers war krystallinisch, enthielt aufser etwas Inosit nur Spuren öligter Substanzen und gab keine Jodoformreaction.

Die ausgeschüttelte Lösung sammt obigem Rückstand wurde im Wasserbad eingetrocknet und der Rückstand mit Thierkohle umkrystallisirt, worauf nahe 5 g Krystalle wieder erhalten wurden.

0,3185 g der lufttrockenen Krystalle gaben nach sechsständigem Trocknen bei 80⁰ einen Gewichtsverlust von 0,054 g oder 16,95 pC., während die Formel des wasserhaltigen Inosits, $C_6H_{12}O_6 + 2H_2O$, 16,67 pC. H₂O verlangt.

Inosit wird also beim Erhitzen mit Salzsäure nicht zersetzt, er liefert keine Lävulinsäure, und *er ist folglich kein wahres Kohlenhydrat.*

Dieser von uns vor 1¹/₂ Jahren gezogene Schlufs ist seitdem glänzend bestätigt worden, denn durch die Untersuchungen von Maquenne **) ist bewiesen, dafs Inosit den

*) Diese Annalen **227**, 229 Anm.

) Bull. soc. chim. [2] **47, 290.

Benzoladditionsproducten zuzurechnen ist, und dafs er höchst wahrscheinlich eine *geschlossene Kette* C_6H_{12} , worin 6H durch 6 OH substituirt sind, enthält.

6) *Isosaccharin*.

Isosaccharin war nach der Vorschrift Kili ani's *) hergestellt worden, nur war schliesslich die Kochflüssigkeit mit Oxalsäure neutralisirt, da das Sättigen mit Kohlensäure sich als sehr langwierig erwies.

Nach dem Eindampfen des Filtrats schied sich das *isosaccharinsaure Calcium* als körniges Pulver ab.

Letzteres wurde abfiltrirt und abgesogen, mit Wasser gewaschen und durch Auflösen in kochendem Wasser, Filtriren und Eindampfen in ähnlicher Gestalt wieder erhalten.

0,317 g lufttrockene Substanz gaben beim Glühen 0,045 g oder 14,19 pC. CaO, während die Formel $(C_6H_{11}O_6)_2Ca$ 14,07 pC. CaO verlangt.

Beim Erhitzen auf 160° trat kein Gewichtsverlust ein.

15,05 g einer in der Wärme bereiteten gesättigten Lösung, welche nach achttägigem Stehen bei Zimmertemperatur filtrirt war, liefen beim Eintrocknen 0,1305 g, also 0,87 pC. Rückstand, was zu Cuisinier's Angabe, dafs Wasser ungefähr 1 pC. isosaccharinsaures Calcium löst, genügend stimmt.

Dies Calciumsalz lieferte mit Oxalsäure zersetzt ein nach dem Eindampfen strahlig krystallisirendes Filtrat, und aus dieser Masse erhielten wir mit Leichtigkeit durch Umkrystallisiren mit Thierkohle reines *Isosaccharin*.

Der Schmelzpunkt war 92° , während Cuisinier 95° angiebt.

5,2545 g lufttrockenes Isosaccharin gaben mit 50,2277 g Wasser eine Lösung von $d_4^{20} = 1,03024$ und zeigten im 200 mm Rohr des Halbschattenapparats von Schmidt und Hänsch 34,9 Scalentheile Rechtsdrehung.

Hieraus ergibt sich :

$$(\alpha)D = \frac{34,9 \cdot 0,346 \cdot 55,4822}{5,2545 \cdot 2 \cdot 1,03024} = 61,88^\circ.$$

*) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **16**, 2625.

Von einem anderen aus der letzten Mutterlange gewonnenen Präparate gaben 4,789 g zu 50 cbcm gelöst im 200 mm Rohr des obigen Apparats 34,1 Scalentheile Verschiebung, woraus $(\alpha)D = 61,6^\circ$ sich ergibt.

Die Polarisation betrug also in annähernd 10 procentiger Lösung 61,6 bis 61,9⁰, während sie nach Cuisinier und Kiliani 63⁰ ist.

Es wurden erhitzt :

1 g *Isosaccharin* mit 20 g verdünnter Salzsäure.

11 g " " 50 g " "

16 g mit 64 g concentrirter Salzsäure und 32 g Wasser, und zwar letztere Mischung 30 Stunden lang.

Mit Ausnahme des zweiten Versuchs, welcher geringe Bräunung zeigte, trat keine Veränderung ein, und es blieben die Flüssigkeiten klar. *Lävulinsäure konnte nicht nachgewiesen werden.*

Aus den ausgeschüttelten Kochflüssigkeiten liefs sich das *Isosaccharin* wiedergewinnen.

3,43 g des letzteren mit 30,979 g Wasser gelöst zeigten ein spec. Gewicht 1,0313 und im Laurent'schen Apparat bei einer Rohrlänge von 199,8 mm eine Drehung von 12,642⁰, woraus sich 61,5⁰ oder die oben gefundene Drehung des *Isosaccharins* wieder ergibt.

Ebenso wenig wie das *Saccharin* *) giebt also das *Isosaccharin* beim Kochen mit verdünnter Salzsäure *Lävulinsäure*. *Metasaccharin* konnten wir nicht untersuchen, weil sich aus den Mutterlaugen des *isosaccharinsauren Calciums* kein *metasaccharinsaures Calcium* ausgeschieden hat.

7) *Methylenitan* oder sog. *Formose* s. folg. Abh.

8) *Phloroglucin*.

Da das *Phloroglucin* die Zusammensetzung $C_6H_6O_3$ besitzt, könnte man es allenfalls zu den Kohlenhydraten rechnen; interessant mußte deshalb eine Prüfung desselben auf das

*) Herrmann u. Tollens a. a. O.

Verhalten beim Kochen mit Salzsäure sein, und dies umso mehr, als Phloroglucin Fehling'sche Lösung nach einiger Zeit reducirt.

Das uns zur Verfügung stehende Handelsproduct war von schmutzig weißer Farbe und schmolz bei kaum 185°. Durch häufiges Umkrystallisiren aus Wasser mit Thierkohle gelang, es den Schmelzpunkt auf circa 213° zu bringen, doch blieb das Präparat trotz aller Mühe etwas unansehnlich. Da nun kürzlich von Baeyer *) darauf hingewiesen ist, dafs je nach der Schnelligkeit des Erhitzens der Schmelzpunkt des Phloroglucins zwischen 218 und 200° gefunden werden kann, so ist die Uebereinstimmung genügend.

5 g dieses *Phloroglucins* wurden mit 10 g der angegebenen Salzsäure erhitzt und, da sich ein harter Kuchen zeigte, noch 10 g Säure zugesetzt. Nach beendigter Kochung wurde von der braunen Masse abgesssen, filtrirt, mit Aether ausgeschüttelt u. s. w.; doch ergab sich ein negatives Resultat, denn *Lävulinsäure* war in dem pulverigen Rückstande vom Verdampfen des Aethers *nicht nachzuweisen*.

Die von der Flüssigkeit getrennte orangebraune Masse schmolz noch nicht bei 270°, das Phloroglucin hat sich also bedeutend verändert, aber ohne dafs *Lävulinsäure* hierbei entstanden ist.

9) *Carmin*.

Seitdem Hlasiwetz und Grabowski **) aus *Carminsäure* aus Cochenille einen Fehling'sche Lösung reducirenden, aber nicht gährenden Zucker $C_6H_{10}O_5$ erhalten hatten, galt die Carminsäure als Glycosid, und folglich wurde meist von dem käuflichen *Carmin* dasselbe angenommen.

Neuerdings ist dies jedoch zweifelhaft geworden, indem

*) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **19**, 2186.

) Diese Annalen **141, 330.

es Liebermann*) nicht gelang, in dem Filtrat von mit Schwefelsäure gekochtem Carmin mit Fehling'scher Lösung Zucker nachzuweisen.

Das uns zu Gebote stehende *Carmin* war nahezu unlöslich in Wasser und Alkohol, löste sich jedoch in Ammoniak und wurde durch Lösen in letzterem, Filtrieren und Abdampfen gereinigt.

Nach mehreren Vorversuchen mit geringeren Mengen wurden 50 g dieses Products mit 200 g verdünnter Salzsäure wie gewöhnlich erhitzt, wobei sich keine Huminsubstanz ausschied.

Der Destillationsrückstand des röthlich gefärbten Schütteläthers gab Jodoformreaction und färbte Fehling'sche Lösung schön violett.

Das Zinksalz krystallisirte nicht und gab mit Silbernitrat wohl eine flockige weisse Fällung, aber es gelang nicht, aus dem warm bereiteten Filtrate lävulinsaures Silber zu erhalten. Zwar setzten sich nach längerem Stehen kleine mikroskopische Säulchen zu Boden, diese hatten aber *keine Aehnlichkeit mit lävulinsaurem Silber*. Für eine Analyse war ihr Gewicht viel zu gering.

10) *Santonin*.

Das Santonin wird nicht zu den Glycosiden gerechnet, und in der That haben Canizzaro**) und verschiedene Mitarbeiter in zahlreichen Abhandlungen von einem etwa beim Kochen mit Säuren entstehenden Zucker nichts erwähnt. Auffallend war dagegen, das Kosmann***) angiebt, er habe mit Schwefelsäure erhebliche Mengen Glycose aus Santonin erhalten, und Erhitzen des Santonins mit Salzsäure und Prüfung auf Lävulinsäurebildung schien geeignet, die Frage, ob ein Kohlenhydrat im Santonin enthalten ist, zu entscheiden.

*) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **18**, 1972.

) Dasselbst **16, 427 u. s. w.

***) Journ. de Pharm. [3] **38**, 81.

10 g reines käufliches *Santonin* wurde mit 20 g verdünnter Salzsäure wie gewöhnlich erwärmt. Nach einigen Stunden lag am Boden des Kolbens eine dunkelbraune Masse, die nach beendigtem Kochen harzartig erstarrte. Die grünlich gefärbte Kochflüssigkeit reducirte allmählich Fehling'sche Lösung. Die Aetherausschüttelung gab geringe Mengen einer braunen amorphen Masse und einige scharf riechende Tröpfchen, welche Jodoformreaction zeigten. *Lävulinsaures Silber war nicht herzustellen.*

Als ein anderes Mal mit Salzsäure von auf die Hälfte verringerter Concentration erhitzt wurde, blieb die Krystallform des *Santonins* erhalten, und es schienen die Krystalle ihr Volum noch etwas zu vergrößern. — Auch hier reducirte die Kochflüssigkeit langsam Fehling'sche Lösung, gab aber *keine Lävulinsäure.*

11) *Tannin (Gallusgerbsäure).*

Bekanntlich wurde früher die *Gerbsäure der Galläpfel* als Glycosid angesehen, und *Strecker* wie Andere haben beträchtliche Mengen Glycose aus derselben erhalten. Das in der Neuzeit nach anderen Methoden hergestellte Tannin soll jedoch keinen Zucker liefern und enthalten.

Um unsere Reaction auf das *Tannin* anzuwenden, erhitzen wir 20 g des käuflichen Products mit 50 g Salzsäure. Die Masse wurde zuerst dickflüssig, und allmählich bildete sich eine dunkelbraune Lösung. Die von etwas Bodensatz abfiltrirte Kochflüssigkeit reducirte Fehling'sche Lösung, gab dagegen kein Jodoform mit Jod und Natron, und *lävulinsaures Silber war nicht zu erhalten.*

Diese Resultate sprechen also *gegen die Glycosidnatur* des jetzt bereiteten Tannins.

12) *Chondrin (Knorpelsubstanz).*

Nach Untersuchung der obigen Stoffe haben wir einige thierische Substanzen der Salzsäurebehandlung unterworfen

und hier zuerst das *Chondrin* oder die Substanz der Rippenknorpel gewählt, weil diese nach verschiedenen Angaben beim Kochen mit Säuren eine Glycose abspaltet *).

Zunächst wurden 150 g sorgfältig von anderen Geweben befreite, mit Wasser gewaschene Kalbsrippenknorpel (Trockengewicht circa 50 g) 20 Stunden lang mit verdünnter Salzsäure im Wasserbade erhitzt. Nach anfänglicher Quellung löste sich nach und nach alles zu einer erst dunkelrothen, nachher braunen Flüssigkeit. Nach dem Erkalten war neben etwas Humin feste Fettsubstanz abgeschieden. Die Flüssigkeit zeigte mit Fehling'scher Lösung Abscheidung von dunklen Flocken, aber keine eigentliche Reduction.

Das Ganze wurde ausgeschüttelt. Der Schütteläther hinterliefs einen fetthaltigen Rückstand, dessen wässriger Auszug deutliche Jodoformreaction gab. Aus diesem Auszug liefs sich eine zur Analyse nicht hinreichende Menge Silbersalz gewinnen, welches übrigens dem Silberlävulat glich.

Zur zweiten Operation wurden 500 g *Knorpel* verwandt; es gelang ein Silbersalz zu gewinnen, welches nach mehrfachem Umkrystallisiren ziemlich rein aussah, aber freilich nur 3 Centigramm betrug.

Durch Glühen wurden aus 0,0299 g Silbersalz 0,0144 g oder 48,16 pC. Silber, also fast die Zahl, welche lävulinsaures Silber verlangt, erhalten.

Trotz der erhaltenen geringen Menge an Lävulinsäure wagen wir den Schlufs, dafs in den verwandten Knorpeln *Kohlenhydrat* vorhanden gewesen ist; ob als integrirender Bestandtheil, ob als „thierisches Gummi“ oder in anderer Form ist hiernach nicht zu entscheiden.

13) *Elastin* (Nackenband).

Nackenband von Ochsen wurde sorgfältig von fremdem

*) Es sind hier besonders die Angaben von Gerhardt, Bödecker, De Bary, Schiff, v. Mering, Petri, Krukenberg, Landwehr zu bemerken, deren Citate sich in Wehmer's Dissertation S. 40 finden.

Gewebe gereinigt, fein zerschnitten und wiederholt mit Wasser, Alkohol und Aether digerirt.

Je 425 g (entsprechend 170 g trockner Substanz) wurden einerseits mit 100 g concentrirter Salzsäure und 100 g Wasser, andererseits nur mit 100 g concentrirter Salzsäure im Wasserbad gekocht. In beiden Kolben trat nach einer halben Stunde Dunkelfärbung und bald darauf Lösung zu einer homogenen, braunvioletten Flüssigkeit ein. Huminsubstanz wurde nicht beobachtet.

In Wasser löste sich von dem stark fetthaltigen Rückstand des Schütteläthers nur wenig, doch zeigte sich lebhaft Jodoformreaction. Das Zinksalz stellte eine helle, nicht krystallisirte Masse dar, und *lävulinsaures Silber* war nicht zu gewinnen, vielmehr erhielten wir bei den bezüglichen Versuchen nur dunkle flockige, nicht weiter zu verarbeitende Ausscheidungen.

14) *Caseïn*.

Hierauf wandten wir uns den eigentlichen Eiweißsubstanzen zu. Bekanntlich ist die Frage, ob oder wie sich im Organismus Kohlenhydrate (z. B. Traubenzucker) aus Eiweiß bilden, eine höchst wichtige, und weiter die Frage, ob sich im Eiweiß Gruppen befinden, welche den Kohlenhydraten nahe stehen und eventuell letztere liefern können. Die Behandlung mit Salzsäure mußte (wenigstens in dem Falle, daß *erhebliche* Mengen dieser Kohlenhydratgruppen vorhanden sind) entscheiden; denn falls es gelang, *Lävulinsäure* auf diese Weise zu gewinnen, konnte man auf die Gegenwart einer durch Behandlung mit Säuren abspaltbaren Kohlenhydratgruppe schließen. Einstweilen haben wir *Caseïn* und *Fibrin* untersucht.

Das aus abgerahmter Milch mit Salzsäure ausgeschiedene *Caseïn* wurde auf einem Tuche gesammelt und durch Decantiren zunächst oft mit Wasser, dann mit Alkohol gewaschen

darauf einige Wochen lang mit häufig erneuertem Aether digerirt.

16 g der trocknen porösen Stückchen wurden mit 90 g verdünnter Salzsäure erhitzt. Zuerst entstand eine feste homogene Masse, bald aber trat Verflüssigung und Dunkelviolett-färbung ein.

Der Rückstand vom Abdestilliren des Schütteläthers war nicht unbedeutend, er hatte einen intensiven Geruch nach Fettsäuren und erstarrte fast ganz zu einer fettartigen Masse.

Die löslichen Theile wurden durch wiederholtes Behandeln mit warmem Wasser extrahirt. Die Lösung gab Jodoformreaction; Versuche, aus derselben Zinklävulat zu gewinnen, waren jedoch erfolglos, denn es wurden nur glasige amorphe Massen erhalten, und beim Versuche *Silberlävulat* herzustellen, bildeten sich unter starker Silberabscheidung nur *amorphe Flocken*.

15) *Fibrin*.

215 g feuchtes, auf gewöhnliche Weise aus Ochsenblut hergestelltes, gut gewaschenes *Fibrin* (entsprechend 76,6 g Trockensubstanz) wurden in zwei Portionen mit Salzsäure auf gewöhnliche Weise erhitzt. Nach einer Viertelstunde war die Säure rothblau gefärbt und nach einigen Stunden die ganze Masse eine dunkle Flüssigkeit.

Der rosenroth gefärbte Schütteläther hinterliefs einen viel Fett enthaltenden Rückstand. Der gelbliche wässerige Auszug des Rückstands gab zwar wieder Jodoformreaction, aber es liefs sich *weder Zink- noch Silberlävulat* gewinnen.

16) *Blut*.

Ueber den Gehalt des Blutes an Kohlenhydrat, speciell Traubenzucker, sind manche Angaben vorhanden, aber dieselben beschränken sich meistens auf Constatirung oder quantitative Bestimmung der Reduction von Fehling'scher Lösung.

Interesse bot der Versuch eines Nachweises des Kohlenhydrats im Blute durch unsere Reaction.

Bald zeigte sich, dafs die Operation des Erhitzens von Ochsenblut mit concentrirter Salzsäure kein Resultat giebt, denn es war unmöglich, die dicke braune Masse mit Aether auszuschütteln.

Sehr gut liefsen sich dagegen die im Blute vorhandenen, nach Ausfällung des Eiweisses löslich bleibenden Stoffe der Salzsäurewirkung unterwerfen.

2¹/₂ Liter Ochsenblut wurden mit einer kleinen Quantität Salzsäure versetzt auf dem Wasserbade coagulirt und die graue Masse ausgeprefst.

Die durch Aufkochen weiter von Eiweifs befreite filtrirte Flüssigkeit reducirte Fehling'sche Lösung und drehte schwach nach links (Glycuronsäure?). Sie wurde mit Eisenoxydsulfat und Bleicarbonat weiter gereinigt, auf ein geringes Volum verdampft und mit absolutem Alkohol versetzt, um die unorganischen Salze möglichst zu fällen.

Das Filtrat hinterliefs 0,53 g Rückstand beim Eintrocknen.

Dieser wurde mit 20 g Salzsäure erhitzt, worauf bald Abscheidung von Humin eintrat, welches trocken 0,12 g wog. Der Schütteläther liefs einen sauer reagirenden, Jodoformreaction zeigenden Rückstand; dieser gab mit Zinkoxyd eine geringe Menge gut krystallisirendes Zinksalz, ferner *sehr wenig* eines gut krystallisirenden *Silbersalzes*, welches *Silberlävulat* gewesen sein kann.

Der Versuch mufs mit noch gröfseren Mengen wiederholt werden, um entscheidendes Resultat zu liefern.

17) *Harn.*

Einerseits wird behauptet, normaler Harn enthalte Traubenzucker oder andere Kohlenhydrate, während dies andererseits geläugnet wird *); es war deshalb interessant, die Salzsäure-Lävulinsäurereaction auf *normalen Harn* anzuwenden.

*) Neuerdings hat Landwehr „thierisches Gummi“ im Harn

5 Liter *normaler Harn* wurden auf $\frac{1}{2}$ Liter abgedampft und dann mit 100 cbcm concentrirter Salzsäure erhitzt, wobei Braunfärbung eintrat. Die Aetherausschüttelung gab wenig eines gut krystallisirenden Zinksalzes und eines Octaëder bildenden Silbersalzes, welche leider zur Analyse nicht ausreichten. Lävulinsaures Silber war nicht mit Bestimmtheit nachzuweisen.

Dies Resultat entspricht der Abwesenheit von *irgend erheblichen* Mengen eines wahren Kohlenhydrats, schließt jedoch Spuren desselben nicht aus.

18) *Kartoffelsaft.*

Aus Kartoffeln wurde durch Zerreiben, Auspressen und sorgfältiges Filtriren ein von Stärkekörnern freies Liquidum hergestellt und je 100 g desselben mit 10 cbcm concentrirter Salzsäure 8 Stunden im Wasserbad erhitzt, worauf der gewöhnliche Operationsgang uns zu *lävulinsaurem Silber* führte.

0,367 g des letzteren lieferten 0,177 g oder 48,23 pC. Silber statt der berechneten 48,43 pC.

In den Kartoffeln ist somit neben der Stärke sonstiges Kohlenhydrat enthalten, was zu den Untersuchungen Anderer stimmt.

19) *Piperinsäure.*

Zufällig im Besitze dieser Substanz, haben wir die Salzsäure-Lävulinsäure-Reaction auf sie angewandt, weil diese Säure, wie Fittig und Mielck*) angeben, mit concentrirter Salzsäure braune harzartige Producte abscheidet, was einigermaßen an die Huminabscheidung aus Kohlenhydraten erinnert. Wir haben 3,5 g Piperinsäure mit 20 g Wasser und 4 g concentrirter Salzsäure 20 Stunden im Wasserbad erhitzt und, da keine Veränderung sich gezeigt hatte, nach Zusatz von 6 g

gefunden (Ber. d. deutsch. chem. Ges. **19**, Ref. S. 568 daselbst nach Centralbl. f. d. med. Wiss. 1885, S. 369 bis 372).

*) Diese Annalen **152**, 29.

Salzsäure weitere 20 Stunden erhitzt, worauf die Flüssigkeit röthlich geworden war. In anderen Fällen war Abscheidung von grauen Massen eingetreten. Die abfiltrirte Substanz wog getrocknet circa 2 bis 5 g. Die Flüssigkeit reagirte weder auf Fehling'sche Lösung, noch auf Jod und Natronlauge, und es war unmöglich, Lävulinsäure daraus zu isoliren*).

Als Resultat der vorstehenden Arbeit hat sich ergeben, dafs unsere Voraussetzungen richtig gewesen sind, denn :

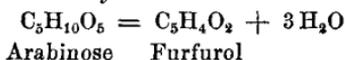
1) Sämmtliche untersuchten unzweifelhaften Kohlenhydrate haben Lävulinsäure gegeben, ebenso die Glycoside Salicin und Amygdalin (letzteres nicht ganz unzweifelhaft). Sorbose hat ein nicht ganz entscheidendes Resultat geliefert.

2) Stoffe, welche ihrer Constitution nach nicht zu den Kohlenhydraten gehören, haben keine Lävulinsäure geliefert (*Isosaccharin, Phloroglucin, Santonin, Piperinsäure*).

3) *Inosit* hat keine Lävulinsäure geliefert, er ist also kein wahres Kohlenhydrat.

4) Aus *Carmin, Gerbsäure (Tannin), Elastin* sowie den Eiweifsstoffen, *Casein* und *Fibrin*, ist kein lävulinsaures Silber erhalten, es geben diese Stoffe also beim Zerlegen mit Salzsäure nur geringe Mengen oder gar kein Kohlenhydrat.

*) In letzter Zeit ist von Stone und Tollens auch die *Arabinose* mit Säuren gekocht worden und es hat sich (s. Tageblatt d. Naturforscher-Versammlung in Wiesbaden S. 87) wohl starke *Humminbildung* und *Furfurol* gezeigt, dagegen war keine Abscheidung von lävulinsaurem Silber oder Zink möglich. *Arabinose* verhält sich also anders als die Glycosen, und dies stimmt zu den Resultaten Kiliani's, nach welchen die *Arabinose* nicht $C_6H_{12}O_6$, sondern $C_5H_{10}O_5$ ist. Das aus den eigentlichen Kohlenhydraten nur spurenhafte entstehende *Furfurol* beträgt bei der *Arabinose* mehrere Procente (nähere Nachrichten werden bald erfolgen) und ist als *Furfuramid* leicht abzuschneiden.



Die Angaben von Conrad und Guthzeit über Zersetzung der *Arabinose* sind hiernach zu berichtigen.

5) Aus *Chondrin* (Rippenknorpel) ist etwas *lävulinsaures Silber* erhalten; dies entspricht dem Vorkommen von Kohlenhydrat in demselben.

6) In normalem Harn sind *keine erheblichen Mengen Kohlenhydrat* vorhanden.

Ueber das Verhalten des Methylenitans (der sog. Formose von Loew) beim Erhitzen mit Säuren;

von *Denselben*.

Das aus Formaldehyd mit Kalk oder Baryt entstehende Product, welches Butlerow zuerst erhalten und *Methylenitan* genannt hat, und welches Tollens*) später untersuchte, giebt nach dem Letztgenannten beim Erhitzen mit Schwefel- oder Salzsäure *keine Lävulinsäure*, wohl aber war es möglich, aus der mit Schwefelsäure gekochten Masse *Milchsäure* abzuscheiden.

Inzwischen ist von O. Loew aus *Formaldehyd* durch Condensation mit Kalk**) in der Kälte ein ähnliches Product erhalten worden, welches dieser Forscher für einheitlich, und zwar nach den Eigenschaften und Reactionen nahezu für eine wahre Glycose hält, welcher er den Namen „*Formose*“ gegeben hat. Ein ähnliches Product hat Loew mittelst Zink***) oder Zinn erhalten und „*Pseudoformose*“ genannt.

*) Ber. d. deutsch. chem. Ges **15**, 1629, sowie besonders Landw. Vers.-Stat. **29**, 355, wo die betr. Citate.

) Journ. f. prakt. Chem. [2] **33, 321.

***) Daselbst **34**, 51.