

## Ueber Furfurolreactionen.

Von

Dr. Ladislaus v. Udránszky.

II. Mittheilung.

(Der Redaction zugegangen am 1. März 1888.)

### IV. Ueber den Nachweis von Kohlehydraten im Menschenharn durch Furfurolbildung.

#### 1. Enthält der normale Harn stets Kohlehydrate?

Die Frage, ob der normale Menschenharn Traubenzucker enthält, hat bisher, trotz der grossen Zahl der Forscher, welche sich an der Ermittlung dieser Verhältnisse betheiligt haben, noch keine endgültige Entscheidung gewonnen. Es ist noch Niemandem geglückt, selbst aus sehr grossen Mengen normalen Harns den Traubenzucker in Substanz darzustellen. Andererseits sind aber die geläufigen Zuckerreactionen keineswegs genügend scharf, um Spuren von Traubenzucker im Harn mit Sicherheit erkennen zu lassen.

Manche Angaben der neueren Litteratur machen es aber immer mehr wahrscheinlich, dass der physiologische Harn geringe Mengen von Kohlehydraten stets enthält. Abgesehen davon, dass nach Einfuhr grösserer Flüssigkeitsmengen in den Organismus Inosit im Harn erscheint, welcher von manchen Autoren sogar als normaler Harnbestandtheil angesehen wird, dass bei Wöchnerinnen und Säugenden Milchzucker im Harn gefunden wurde, sei hier darauf hingewiesen, dass Landwehr<sup>1)</sup> das sogenannte thierische Gummi als normalen Harn-

1) Centralblatt f. d. med. Wiss., 1885, No. 21.

bestandtheil beschrieben hat, und dass es durch meine, aus einem anderen Gesichtspunkte angestellten Untersuchungen<sup>1)</sup> bewiesen wurde, dass aus jedem normalen Harn durch gewisse Proceduren Huminsubstanzen abgeschieden und als deren Quelle nur Kohlehydratbestandtheile des normalen Harns angesehen werden können.

Der Umstand, dass nach unseren bisherigen Kenntnissen Furfurol aus allen Kohlehydraten und nur aus solchen gewonnen werden kann, brachte den Gedanken nahe, ob man die Pettenkofer'sche Probe auf Gallensäuren, welche wir seit Mylius's Untersuchungen ebenfalls als eine Furfurolreaction kennen gelernt haben, nicht gewissermassen umdrehen, d. h. die Gallensäuren dazu benützen könnte, um geringe Mengen von Kohlehydraten im Harn nachzuweisen. Die Schärfe der Pettenkofer'schen Reaction leidet aber wesentlich, wenn man nicht reine Lösungen, sondern etwa Harn zur Untersuchung verwendet. Meine Versuche scheiterten eben an der Undeutlichkeit der Färbung von einer Furfurolreaction der Gallensäuren im Harn<sup>2)</sup>. Ich war deshalb genöthigt, andere, noch schärfere und durch störende Agentien weniger beeinflussbare Furfurolreactionen zum Nachweise von Kohlehydraten im Harn zu verwenden.

Es erschien für solche Zwecke ganz geeignet eine Furfurolreaction, welche schon früher H. Schiff<sup>3)</sup> für die Erkennung geringer Mengen von Kohlehydraten im Allgemeinen empfohlen hat. Man vermischt nach seiner Vorschrift Xylidin mit dem gleichen Volum Eisessig, versetzt die Lösung mit etwas Alkohol und taucht dann in die Flüssigkeit Filtrirpapierstreifen ein. Wenn diese getrocknet, so sind sie zur Verwendung geeignet, welche darauf beruht, dass die Papiere mit geringsten Mengen Furfurol benetzt, durch die Bildung des Salzes vom Furoxylydin ( $C_4H_3O \cdot CH \cdot (C_6H_5NH_2)_2$ ) prachtvoll rothgefärbt erscheinen. Um Kohlehydrate in irgend einer Substanz oder Flüssigkeit

1) Diese Zeitschrift, Bd. XI, No. 6. und Bd. XII, No. 1 u. 2.

2) Vgl. diese Zeitschrift, dies. Band, S. 373.

3) Berichte d. deutsch. chem. Ges., Jahrg. XX, S. 540.

nachzuweisen, braucht man nur diese mit einem geringen Ueberschuss von concentrirter Schwefelsäure im Reagenrohr vorsichtig zu erhitzen und die ausströmenden Dämpfe durch einen in die Mündung des Reagenrohrs eingeschobenen Xylidinacetatpapierstreifen streichen zu lassen.

Es zeigte sich nun, dass durch Erhitzen mit der Säure aus jedem physiologischen Harn Furfurol gewonnen werden kann, und dass die Reaction in vielen Fällen gelingt, wenn man auch nur einen Tropfen des Harns dazu verwendet. Die von Baumann<sup>1)</sup> für die Abtrennung und Isolirung der Kohlehydrate in Vorschlag gebrachte Methode gab mir ferner die Möglichkeit, es noch strieter zu beweisen, dass die Röthung der Schiff'schen Reagenspapiere bei diesen Versuchen wirklich nur auf eine Abspaltung von Furfurol aus Kohlehydratbestandtheilen des normalen Harns zurückzuführen ist. Ich habe also den Harn mit Benzoylchlorid und 10 procentiger Natronlauge wiederholt kräftig durchgeschüttelt und den Niederschlag dann von der Flüssigkeit abgetrennt. Das mit Phosphaten des Harns verunreinigte Benzoësäureestergemenge gab die Schiff'sche Furfurolreaction in einer sehr eclatanten Weise, während aus der Flüssigkeit nur dann zum Gelingen der Reaction genügende Mengen von Furfurol herausdestillirt werden konnten, wenn mehrere Cubikcentimeter mit der conc. Schwefelsäure erhitzt wurden. Der Umstand, dass der Harn, wenn auch in viel abgeschwächerem Maasse, selbst nach Abtrennung der Kohlehydrate in Form von Benzoësäureestern, die Furfurolreaction noch zeigte, kann nicht so gedeutet werden, dass durch Zersetzungsproducte anderer Harnbestandtheile die Schiff'schen Reagenspapiere ebenfalls geröthet werden können. Die Erklärung ist vielmehr dadurch gegeben, dass ein Theil von den Kohlehydraten der Benzoylirung gewöhnlich entgeht. Diese geringen Mengen können aber angesichts der grossen Empfindlichkeit der Furfurolreaction schon zur Nachweisbarkeit genügen.

1) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Jahrg. XIX S. 3218.

Es war also durch diese Versuche ermittelt, dass in jedem physiologischen Harn beim Erhitzen mit concentrirter Schwefelsäure Furfurol gebildet wird, somit ein weiterer Beweis dafür geliefert worden, dass im normalen Menschenharn Kohlehydrate stets vorkommen.

Es sei hier zugleich einer Beziehung der Furfurolbildung zu gewissen Farbenercheinungen im Harn Erwähnung gethan. Das Furfurol gibt bekanntlich mit Leichtigkeit Veranlassung zu Färbungen verschiedenster Art. Es ist daher leicht denkbar, dass das im Harne unter dem Einfluss der Säure gebildete Furfurol mit manchen Bestandtheilen des Harns solche Färbungen bedingen kann. Dies wäre somit eine einfache Ergänzung der Erklärung, welche ich früher für das Zustandekommen der Dunkelfärbung in mit Säuren erhitzten Harnen gegeben habe, nämlich dass diese Verdunkelung durch Zersetzungsproducte der Kohlehydratbestandtheile des Harns — Huminsubstanzen — bedingt ist<sup>1)</sup>.

Für den Nachweis von Kohlehydraten im Harn ist bei Weitem noch geeigneter wie die Schiff'sche Reaction die Furfurolreaction mit  $\alpha$ -Naphthol und Schwefelsäure, welche bereits im I. Capitel dieser Mittheilungen besprochen wurde. Molisch<sup>2)</sup> hat für die Zwecke klinischer Harnuntersuchungen vor nicht sehr langer Zeit zwei Zuckerreactionen angegeben. Nach seinen Angaben tritt in mit Thymol oder  $\alpha$ -Naphthol versetzten Harnen auf Zusatz von concentrirter Schwefelsäure eine charakteristische sherry- bis rubinrothe, respective violette Färbung ein, welche nach Molisch's Ansicht durch das Vorhandensein von Traubenzucker im Harn bedingt ist. Nach meinen Untersuchungen unterliegt es nun keinem Zweifel, dass diese beiden Reactionen Molisch's in Wahrheit Furfurolreactionen sind, sie im Harn nur durch die Bildung von Fur-

1) A. a. O.

2) Sitzungsberichte der mathematisch-naturwissenschaftlichen Classe der kais. Akademie der Wissenschaften in Wien. XCIII. Band, II. Abthlg. S. 912.

furool zustandekommen und das Vorhandensein von Kohlehydraten überhaupt — und nicht des Traubenzuckers allein — mit Sicherheit anzeigen.

Die Färbung der Furfuroolreaction mit Thymol und Schwefelsäure kann unter Umständen schwer zu unterscheiden sein von der Verfärbung des Harnes, welche schon nach Zusatz von Schwefelsäure allein eintritt. Die Violettfärbung bei der  $\alpha$ -Naphthol-Reaction ist hingegen sicher und scharf zu erkennen. Diese Reaction ist auch äusserst empfindlich, so dass man mit ihr in einem einzigen Tropfen eines jeden normalen Harnes eine intensive Violettfärbung bekommt und bei passender Versuchsanordnung auch noch die spectroscopische Untersuchung vornehmen kann. Für die  $\alpha$ -Naphthol-Reaction wurde mittelst der Baumann'schen Methode ebenfalls nachgewiesen, dass sie im Harn nur durch Kohlehydrate bedingt wird, welche in Form von Benzoësäureestern abgetrennt werden können.

Die Reaction von Molisch, welche ihr Autor keineswegs als Furfuroolreaction erkannt hat, ebenso wie die Schiff'sche Furfuroolreaction, geben somit ein sicheres Mittel an die Hand, um zu zeigen, dass der normale Menschenharn Kohlehydrat stets enthält. Stellt man diese Reactionen mit der von mir angegebenen Vorschrift und Bedingungen an (welche später noch ausführlicher besprochen werden), so gelingt es mit der Schiff'schen Reaction in vielen Fällen — mit der  $\alpha$ -Naphthol-Reaction aber immer —, schon mit einem Tropfen eines jeden normalen Harnes, diesen Nachweis mit positivem Erfolge zu führen. Dieser Umstand scheint mir besonders deshalb bemerkenswerth zu sein, weil früher, um einen solchen Nachweis auf eine andere Weise zu gewinnen, oft viele Liter vom Harn verarbeitet worden sind, ohne dass sich dabei immer ein positives Resultat ergeben hätte.

Wenn somit das Vorhandensein von Kohlehydrat im normalen Menschenharn ausser Frage steht, so fehlt es doch noch an einem directen Nachweis darüber, ob das Kohlehydrat des Harnes aus Traubenzucker — wie es auch Molisch anzunehmen scheint —, oder noch aus einem anderen, oder

mehreren Kohlehydraten besteht. Inwieweit besonders das von Landwehr beschriebene thierische Gummi bei diesen Reactionen betheiligt ist, darüber liegen noch keine Erfahrungen vor.

## 2. Die Verwendbarkeit der Furfurolreactionen zu einer annähernden quantitativen Bestimmung von Kohlehydraten im Harn.

Da selbst äusserst geringe Mengen eines jeden normalen Harnes beim Erhitzen mit concentr. Schwefelsäure Furfurol liefern, so ist es verständlich, dass keine Furfurolreaction dazu dienen kann, ohne Weiteres anzuzeigen, ob irgend ein Harn bezüglich seines Gehaltes an Kohlehydraten als normal oder als pathologisch betrachtet werden muss.

Molisch hat schon bei der von ihm empfohlenen Zuckerreaction gefunden, dass man den Harn verdünnen muss, wenn man mit Hülfe dieser Reaction die Unterscheidung normalen Harns vom pathologischen durchführen will. Seine Angaben sind aber viel zu wenig präcis, um seine Methode als eine nur annähernd quantitative betrachten zu lassen.

Es erschien aber wahrscheinlich, dass man die Furfurolreactionen, da wir nun über ihr Zustandekommen im Harn aufgeklärt sind, bei einer passenden Versuchsanordnung doch zu einer annähernden quantitativen Bestimmung der Kohlehydrate im Harn benützen könnte.

Eine bedeutende Schwierigkeit war dadurch gegeben, dass die Grenze zwischen physiologischer und pathologischer Kohlehydratausscheidung noch nicht sicher festgestellt ist. Man nennt im Allgemeinen einen Harn diabetisch, wenn irgend eine von den üblichen Zuckerreactionen positiv ausfällt und wenn dieser nachgewiesene Zuckergehalt nicht etwa auf eine, noch als physiologisch zu betrachtende, vorübergehende Zuckerausscheidung — z. B. auf eine «glycosurie alimentaire» — zurückgeführt werden kann.

Die Methoden, welche zur quantitativen Bestimmung des Traubenzuckers in diabetischen Harnen dienen und welche

nach den neueren Verbesserungen von Worm-Müller und Soxhlet u. A. für diesen Zweck einen bedeutenden Grad von Genauigkeit erreicht haben, sind nicht verlässlich oder gar nicht anwendbar in denjenigen Fällen, wo es sich um Bestimmung von Zuckerwerthen im Harn handelt, welche nur Zehntel Procente betragen.

Die Frage, ob ein Harn als diabetisch zu betrachten sei, wird daher in vielen Fällen nur durch eine qualitative Probe entschieden. Deshalb dürfte eine Reaction, welche leicht ausführbar eine annähernd genaue Abschätzung des Gehaltes an Kohlehydraten im Harn ermöglicht, nicht ohne Interesse sein.

Bei den im Folgenden beschriebenen Versuchen stellte ich mir zur Aufgabe, die Furfurolreactionen dem Zwecke und den Erfordernissen einer klinischen Harnuntersuchung anzupassen.

Aus der grossen Zahl der bekannt gewordenen Furfurolreactionen wählte ich zweie, die Schiff's mit Xylidinacetat, und die Furfurolreaction des  $\alpha$ -Naphthols aus, da von diesen mehrfach erwiesen wurde, dass sie neben grosser Schärfe, Empfindlichkeit und Sicherheit, auch eine gewisse Bequemlichkeit für die practische Ausführung mit sich bringen.

Ich suchte zunächst mit Kohlehydratlösungen von bekanntem Procentgehalt bei einer bestimmten Versuchsanordnung festzustellen, wie weit die Empfindlichkeit dieser Furfurolreactionen reicht. Es wurde zu diesen Vergleichsversuchen immer je ein Tropfen<sup>1)</sup> von Traubenzuckerlösungen ver-

1) Ich wendete zu diesen Vergleichsversuchen ebenso, wie auch später zu den Harnreactionen darum nur je einen Tropfen und nicht grössere Quantitäten an, weil es bequemer ist, einen Tropfen aus einer Flüssigkeit zu nehmen, als etwa davon 1 oder mehrere Cubikcentimeter genau abzumessen. Ich überzeugte mich übrigens durch zahlreiche Versuche, dass die Grösse und das Gewicht des Tropfens sehr wenig variirt, wenn man aus einer und derselben Flüssigkeit den Tropfen auf verschiedene Weise nimmt. Für die Furfurolreactionen hat aber die Anwendung nur eines Tropfens noch weitere Vortheile. Je kleiner die Menge der Flüssigkeit, um so leichter ist es, das gebildete Furfurol dar-

chiedener Concentration verwendet. Durchschnittgewichtsbestimmungen von 20—30 Tropfen sind den Berechnungen zu Grunde gelegt.

Für die Schiff'sche Furfurolreaction zeigte es sich nun, dass wenn man einen Tropfen einer 0,2procentigen Traubenzuckerlösung mit 1 cbem. concentrirter Schwefelsäure erhitzt, die Reaction noch gut gelingt. Wendet man dagegen einen Tropfen einer 0,16procentigen Traubenzuckerlösung an, so wird die Röthung der Reagenspapiere schon schwächer und mit einem Tropfen einer 0,13procentigen Traubenzuckerlösung tritt die Reaction nicht mehr deutlich ein. Die Menge des bei dieser Versuchsanordnung mit Hülfe der Schiff'schen Furfurolreaction noch nachweisbaren Traubenzuckers variirt nach der Berechnung zwischen 0,00007 gr. und 0,000088 gr.<sup>1)</sup>.

Nach der grossen Empfindlichkeit, welche für die  $\alpha$ -Naphthol-Reaction bei dem Nachweise des Furfurols gefunden wurde<sup>2)</sup>, war es schon a priori anzunehmen, dass diese Reaction auch bei der Untersuchung von Traubenzuckerlösungen die Schiff'sche Furfurolreaction an Empfindlichkeit übertreffen wird. Diese Vermuthung hat sich auch wirklich bestätigt.

Gibt man zu einem Tropfen einer 0,06procentigen Traubenzuckerlösung zwei Tropfen einer 15procentigen alko-

---

aus ganz herauszudestilliren, wie es bei der Schiff'schen Furfurolreaction geschehen muss. Bei Furfurolreactionen, wo man auch schon darum ein stärkeres Erhitzen der Flüssigkeit vermeiden muss, damit die Färbung nicht darunter leide — wie z. B. auch bei der  $\alpha$ -Naphthol-Reaction —, ist es auch vom Vortheil, nur geringe Mengen zu untersuchen. Man braucht nämlich dann um so weniger Schwefelsäure zuzusetzen, wodurch die Gefahr einer allzu starken Erwärmung der Flüssigkeit um ein Wesentliches herabgesetzt wird.

<sup>1)</sup> Schiff führt in seiner citirten Arbeit an, dass er mit Hülfe seiner Furfurolreaction noch 0,00005 gr. Zucker nachweisen konnte. Der geringe Unterschied in unseren Resultaten rührt vielleicht daher, dass Schiff mit trockner Substanz, ich aber mit einer Flüssigkeit die Bestimmung ausgeführt habe.

<sup>2)</sup> Vgl. diese Zeitschrift, dies. Band, S. 366.

holischen Lösung von  $\alpha$ -Naphthol, so trübt sich zunächst die Flüssigkeit. Giesst man nun vorsichtig unter das Gemisch etwa  $\frac{1}{2}$  ccm. concentrirter Schwefelsäure in das Reagenrohr, so stellt sich über dem grünen Saum (hervorgerufen durch die Einwirkung der Mineralsäure auf das  $\alpha$ -Naphthol) nach kurzer Zeit ein dunkelvioletter Farbenring ein. Vermischt man die Flüssigkeiten durch Umschüttelung (bei Abkühlung!) zu der Zeit, wo diese Farbenscheinung eben zu bemerken ist, so resultirt eine carmoisinrothe Färbung, mit einem Stich in's Blaue. Es sind dann in der Flüssigkeit zugleich die, im I. Capitel dieser Mittheilungen beschriebenen Spectralscheinungen wahrzunehmen. Die Reaction ist bei Anwendung eines Tropfens einer 0.05 procentigen Traubenzuckerlösung schon etwas undeutlich. Nimmt man einen Tropfen einer 0.03 procentigen Traubenzuckerlösung zur Reaction, so sind keine charakteristischen Erscheinungen mehr zu bemerken. Die Menge des bei dieser Versuchsanordnung mit Hülfe der  $\alpha$ -Naphthol-Reaction noch nachweisbaren Zuckers variirt sonach zwischen 0,000028 gr. und 0,000033 gr.

Nebenbei sei hier noch erwähnt, dass diese beiden Furfurolreactionen selbst für den Nachweis des Traubenzuckers alle bisher üblichen Methoden der Zuckerbestimmung an Empfindlichkeit übertreffen. Ich überzeugte mich durch wiederholte Untersuchungen, dass bei der grössten Vorsicht, und Anwendung von ganz frisch bereiteter Fehling'scher Lösung, es nie möglich war, durch die Trommer'sche Probe den Zucker (in reiner wässriger Lösung) nachzuweisen, wenn dessen Menge unterhalb 0,00012 gr. bis 0,00014 gr. zu stehen kam. Die geringsten Mengen des mit der Trommer'schen Probe, mit der Schiff'schen Furfurolreaction und der Reaction mit  $\alpha$ -Naphthol und Schwefelsäure, in reinen Lösungen noch nachweisbaren Zuckers verhalten sich also wie 0,00012 gr. : 0,00007 gr. : 0,000028 gr.

Die Differenz ist natürlich noch grösser, wenn es sich darum handelt, die Untersuchung im Harn auszuführen. Das im Harn gebildete Furfurol wird zwar zum Theil durch einige

Bestandtheile des Harns gebunden, und somit der Reaction entzogen. Diese Beeinträchtigung der Furfurolreactionen ist aber viel geringer, wie die Hindernisse, welche dem guten Gelingen einer Trommer'schen Probe im Harn entgegen-treten.

Die meisten Kliniker werden wohl einen Harn für diabetisch erklären, wenn derselbe dauernd circa 0,5% oder noch mehr Zucker enthält. Auf Grund der früheren Erfahrungen mit reinen Traubenzuckerlösungen habe ich zahlreiche Versuche mit normalen und diabetischen<sup>1)</sup> Harnen ausgeführt. Alle diese Versuche liessen die Anwendbarkeit der Methode und der Berechnung für den vorliegenden Zweck als sichere erkennen.

Gilt es also zu ermitteln, ob ein Harn mehr oder weniger als 0,5% Zucker oder Kohlehydrat enthält, so ist in folgender Weise zu verfahren:

#### a) Bei der Schiff'schen Furfurolreaction.

Man verdünnt den zu untersuchenden Harn, mit Wasser, auf das Vierfache seines Volums. Es wird dann ein Tropfen des verdünnten Harns mit etwa 1 ccm. concentrirter Schwefelsäure im Reagenrohr erhitzt und in die Mündung dieses ein mit Xylidinacetat getränkter Papierstreifen eingeschoben. Erzeugen die ausströmenden Dämpfe eine kräftige Röthung des Reagenspapiers, so ist der Harn bezüglich seines Gehaltes an Kohlehydraten pathologisch, d. h. er ist im Stande, ebenso viel Furfurol zu liefern, wie eine Traubenzuckerlösung, welche wenigstens 0,5procentig ist. Bleibt die Röthung der Papiere aus, so ist der Harn bezüglich seines Gehaltes an Kohlehydraten normal.

1) Es wurde der Zuckergehalt diabetischer Harne von mehreren Fällen durch Titrirung genau ermittelt. Die Harne wurden alsdann so weit verdünnt, dass ihr Zuckergehalt auf 0,5% zu stehen kam. Mit so verdünnten Harnen wurden dann Controllversuche ausgeführt, und diese ergaben eine vollkommene Uebereinstimmung mit den Versuchen, zu welchen reine Traubenzuckerlösungen von 0,5% verwendet wurden.

b) Bei der  $\alpha$ -Naphthol-Reaction.

Man verdünnt den zu untersuchenden Harn, mit Wasser, auf das Zehnfache seines Volums. Es wird dann ein Tropfen des verdünnten Harnes im Reagensrohr mit zwei Tropfen einer 15procentigen alkoholischen Lösung von  $\alpha$ -Naphthol versetzt. Man lässt nun etwa  $\frac{1}{2}$  ccm. concentrirter Schwefelsäure vorsichtig unter das Gemisch fließen. Tritt an der Berührungsfläche der Flüssigkeiten über einem grünen Saum ein violetter Farbenring in der Flüssigkeit ein, so ist der Harn bezüglich seines Gehaltes an Kohlehydraten pathologisch, d. h. er ist im Stande, so viel Furfurol zu liefern, wie eine Traubenzuckerlösung, welche wenigstens 0,5procentig ist. Ist der violette Farbenring nicht zu beobachten, so kann man den Harn bezüglich seines Gehaltes an Kohlehydraten als normal betrachten<sup>1)</sup>.

Einige Bemerkungen, die Anstellung der Reactionen betreffend, sollen hier noch angeführt werden.

Die Furfurolreactionen dürfen nur mit eiweissfreien oder solchen Harnen vorgenommen werden, welche nur Spuren von Eiweiss enthalten<sup>2)</sup>. Unbedeutende Mengen von Eiweiss im Harn können vernachlässigt werden, weil bei der äusserst geringen Menge des Harns, welche ich zu den Reactionen verwende, die Störung durch das Eiweiss beinahe gleich Null wird. Erheblichere Mengen von Eiweiss stören aber die Beurtheilung der Reaction. Seegen<sup>3)</sup> hat schon gefunden, dass die Molisch'sche Zuckerreaction mit  $\alpha$ -Naphthol und Schwefelsäure auch von solchen Eiweisskörpern getheilt wird, gegen deren Reinheit nichts einzuwenden ist. Meine im folgenden

1) Molisch hat bei seiner «Zuckerreaction» mit  $\alpha$ -Naphthol im Harn gefärbte Ausscheidungen beschrieben, welche eintreten, wenn das Reaktionsgemisch mit Wasser verdünnt wird. Nach meinen Erfahrungen ist diese Erscheinung bei der äusserst geringen Menge des Harns, welche ich zur Furfurolreaction mit  $\alpha$ -Naphthol benützte, gar nicht characteristisch.

2) Enthält der Harn mehr Eiweiss, so muss man ebenso verfahren, als wenn man einen eiweisshaltigen Harn zur polarimetrischen Bestimmung des Traubenzuckers vorbereiten will.

3) Centralbl. f. d. med. Wiss., XXIV. Jahrg., 1886, No. 44 u. 45.

Capitel dieser Mittheilungen zu beschreibenden Versuche geben eine einfache Erklärung der Beobachtung Seegen's.

Die Reagensröhrchen, welche zu den Reactionen gebraucht werden, müssen absolut rein sein. Schiff hat schon angegeben, dass wenn Papierfaserchen, kleine Baumwollfäden etc. im Reagensrohr bei der Reinigung desselben zurückbleiben, oder die Reagensröhrchen einige Zeit in einer staubigen Atmosphäre unbedeckt stehen bleiben, so können durch das Erhitzen des Rohrs allein aus dessen Verunreinigungen schon genügende Mengen von Furfurol entwickelt werden, damit ein an die Mündung gehaltenes Xylidinacetatpapier röthlich gefärbt erscheine.

Bei der Bereitung der Schiff'schen Reagenspapiere muss Sorge getragen werden, dass der Eisessig ganz frei von Furfurol sei. Nach V. Meyer's<sup>1)</sup> Mittheilungen ist der käufliche Eisessig nämlich oft mit Furfurol verunreinigt; diese Verunreinigung kann nach colorimetrischen Bestimmungen (mit Anilin) selbst 0,108 gr. pro Liter betragen.

Für die Empfindlichkeit und Haltbarkeit der Reagenspapiere ist es von Vortheil, wenn das Gemisch gleicher Volumina Xylidin und Eisessig, nur mit ganz wenig Alkohol versetzt, zur Tränkung der Papierstreifen dient. Die Reagenspapiere müssen an der Luft an einem nicht zu warmen Orte getrocknet werden. Die Papiere können erst dann zu den Reactionen verwendet werden, wenn sie bereits ganz trocken sind. Es ist fernerhin rathsam, die Papiere bei der Aufbewahrung vor Luft und Licht einigermassen zu schützen. Es hat sich aber gezeigt, dass solche Schiff'sche Reagenspapiere, die ich vor etwa drei Monaten anfertigte und welche seitdem in einem offenen Schälchen frei an der Luft standen, von ihrer Empfindlichkeit nur wenig einbüssten.

Ich will schliesslich noch besonders hervorheben, dass die von mir geschilderten Versuche einer quantitativen Bestimmung der Kohlehydrate im Harn keinen Anspruch auf

<sup>1)</sup> Berichte d. deutsch. chem. Ges., XI. Jahrg., S. 1870.

absolute Genauigkeit machen können. Sie werden insbesondere die bisher üblichen Methoden der quantitativen Bestimmung des Traubenzuckers in diabetischen Harnen nicht verdrängen. Sie werden aber — darüber liegen mir zahlreiche Erfahrungen vor — mit wesentlichem Nutzen zu verwenden sein da, wo es gilt, durch einen einfachen Versuch zu entscheiden, ob der Harn nur wenige Zehntel Procente, oder einen bedeutenden Gehalt an Kohlehydraten besitzt. Um es kurz zu sagen, sind also diese Reactionen besonders dazu geeignet, zu ermitteln, ob ein Harn bezüglich seines Kohlehydratgehaltes als ein normaler oder als ein pathologischer zu betrachten sei.

Endlich ist bei den beschriebenen Reactionen in Betracht zu ziehen, dass die Furfuolreactionen auf alle im Harn vorhandenen Kohlehydrate zu beziehen sind. Es ist vorauszu- sehen, dass das thierische Gummi die Furfuolreaction geben wird. Ich habe ferner festgestellt, dass die Glycuronsäure<sup>1)</sup> ebenso Furfuol liefert, wie die Kohlehydrate.

Ueber das Vorkommen dieser Substanzen im normalen Harn ist indessen mit Sicherheit nur das nachgewiesen, dass der Gehalt des Harns an thierischem Gummi ein sehr geringer ist. Dagegen ist es festgestellt, dass die pathologische Vermehrung der Kohlehydrate im Harn wesentlich nur auf einer Vermehrung des Traubenzuckers beruht. Aus diesem Grunde sind auch bei den früheren Controll- und Vergleichs- bestimmungen die Furfuolreactionen stets auf Lösungen von reinem Traubenzucker bezogen worden.

#### V. Ueber die Bildung von Furfuol aus Eiweiss.

Die Beziehung der Kohlehydrate zum Eiweiss, d. h. die Bildung von Kohlehydraten aus Eiweiss, ist bis jetzt nur auf physiologischem Wege nachgewiesen worden.

Claude Bernard<sup>2)</sup> konnte bei Versuchen an Thieren, welche andauernd mit Fleisch gefüttert worden sind, eine

<sup>1)</sup> Ich verdanke ein Specimen von Glycuronsäureanhydrid der Freundlichkeit des Herrn Dr. H. Thierfelder in Strassburg.

<sup>2)</sup> Cl. Bernard: Nouvelle fonction du foie. Paris 1853. Lecons de physiologie expérimentale. Paris 1855.

reichliche Zuckerbildung in der Leber constatiren. Gegen die Erklärung dieser Beobachtung Bernard's wurden verschiedene Einwendungen erhoben. Es wurde vorgehalten, dass diese reichliche Zuckerbildung in der Leber von dem Dextrin- resp. Glycogengehalte des Fleisches, welches zur Fütterung der Versuchsthiere diente, abhängig sein könnte. Für die Erklärung der Glycogenanhäufung in der Leber wurde dann auch die «Ersparnisstheorie» zur Hülfe genommen.

Es ist hier nicht am Platze, auf die reichhaltige Literatur, welche sich mit diesem Gegenstande beschäftigt, sowie auf die Erörterung dessen, wie weit die gegen die Bernard'sche Beobachtung gemachten Einwendungen berechtigt sind, näher einzugehen. Es soll nur hervorgehoben werden, dass nach den Ergebnissen der neueren Forschung die Beobachtung Bernard's thatsächlich nicht anders gedeutet werden kann, als dass der thierische Organismus die Fähigkeit besitzt, aus Eiweisskörpern Kohlehydrate zu bilden.

Zunächst hat Seegen<sup>1)</sup> die Bernard'schen Versuche wiederholt, indem er Pepton anwendete. Er fand, dass bei Peptonfütterung der Thiere, oder nach Injectionen von Pepton, der Glycogengehalt der Leber steigt. Aus Versuchen mit der überlebenden Leber hat Seegen weiterhin geschlossen, dass im Organismus das Pepton hauptsächlich in der Leber zer- setzt wird<sup>2)</sup>, und dass der Leberzucker auch zu den Producten dieser Umwandlung gehört.

Thierfelder<sup>3)</sup> hat dann gezeigt, dass durch langes Hungern kohlehydratfrei gemachte Thiere nach Eingabe von Chloralhydrat oder tertiärem Amylalkohol gepaarte Glycuronsäuren produciren. Die Glycuronsäure kann in diesen Fällen nur aus dem Eiweissbestande der Thiere entstanden sein.

Der weitaus wichtigste Nachweis über die Fähigkeit des Organismus, aus Eiweiss Kohlehydrate zu bilden, wurde durch

1) Biolog. Centralblatt, II. No. 19. S. 593.

2) Dass die Leber im Stande ist, in's Blut gebrachtes Pepton zurückzuhalten, geht schon aus früheren Versuchen Płósz's und Gyergyai's (Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. IX, 1874. S. 325) hervor.

3) Diese Zeitschr., Bd. X. S. 163.

die Untersuchungen v. Mering's<sup>1)</sup> geliefert. v. Mering erkannte im Phloridzin ein Mittel, mit welchem man äusserst leicht und sicher vorübergehenden, hochgradigen Diabetes mellitus hervorrufen kann. Wurde kohlehydratfrei gemachten Hunden etwa 20 gr. Phloridzin dargereicht, so trat eine, auf ohngefähr 48 Stunden sich erstreckende Zuckerharnruhr ein. Aus den parallel mit den Zuckerbestimmungen ausgeführten Bestimmungen der Stickstoffausscheidung schliesst v. Mering, dass der stickstofffreie Theil des Eiweisses zum grösseren Theil, mindestens zu  $\frac{2}{13}$ , aus Kohlehydrat besteht; dieser Werth ist aber wahrscheinlich noch grösser, da wohl anzunehmen ist, dass durch das Phloridzin nicht alles Kohlehydrat, welches aus Eiweiss entstanden ist, vor Verbrennung geschützt, im Urin ausgeschieden wird.

Man hat in der neueren Zeit die Frage, ob Kohlehydrate aus dem Eiweiss direct, oder auf indirecte Weise gebildet werden, d. h. ob das Eiweissmolekül Kohlehydratreste enthält oder nicht, vielfach discutirt. Während v. Mering seine Versuche mit der ersteren Auffassung in Einklang bringt, hat sich Pflüger<sup>2)</sup> für die indirecte Bildung der Kohlehydrate aus Eiweiss ausgesprochen.

Der chemische Nachweis der Bildung von Kohlehydraten aus Eiweiss ausserhalb des Organismus ist bis jetzt noch nicht geglückt. Bei keiner Spaltung des Eiweisses hat man Kohlehydrate erhalten. Dass beim Kochen des Eiweisses mit Alkalien leicht oxydable Substanzen gebildet werden, daraus kann man wohl kaum — wie Krukenberg<sup>3)</sup> es thut — auf die Präexistenz von Kohlehydraten im Eiweissmolekül schliessen.

1) J. v. Mering, «Ueber exp. Diabetes.» «Ueber Diab. mellitus.» Separatabdrücke aus den Verhandlungen des V. und VI. Congresses für innere Medicin in Wiesbaden. 1886 u. 1887.

2) Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. XLII, S. 144.

3) S.-A. aus den Sitzungsberichten der Jenaischen Gesellschaft f. Medic. u. Naturwiss. 1885. Ref. in Maly's Jahresber. üb. d. Fortschr. d. Thierchemie. Bd. XV, S. 17.

Wehmer und Tollens<sup>1)</sup> verneinen die Präexistenz von Kohlehydraten im Eiweissmolekül auf Grund ihrer Versuche, welche zeigten, dass man beim Kochen der Eiweisskörper mit Salzsäure keine Lävulinsäure erhält, während alle echten Kohlehydrate bei dieser Behandlung Lävulinsäure liefern.

Es gelingt leicht, zu zeigen, dass beim Erhitzen des Eiweisses mit concentrirter Schwefelsäure Furfurol entsteht. Schon geringe Mengen käuflichen Peptons gaben eine sehr deutliche Reaction mit Xylidinacetat. Um aber jede Beimengung von Kohlehydraten bei den zu den Versuchen verwendeten Eiweisskörpern mit Sicherheit ausschliessen zu können, wurde frisch geschlagenes Fibrin vollständig gewaschen und nachher zu der Untersuchung benützt.

Es wurden 17 gr. lufttrocknen Fibrins mit 40 gr. concentrirter Schwefelsäure und 20 gr. Wasser in einem Kolben über freier Flamme erhitzt. Das Destillat in der Vorlage rief auf den Schiff'schen Reagenspapieren eine intensive Rothfärbung hervor. Ein Theil des Destillates, mit Natriumcarbonat neutralisirt und im Reagensrohr gekocht, gab Dämpfe ab, welche das Xylidinacetatpapier ebenfalls stark rötheten. Etwa 1 ccm. des Destillates mit in Essigsäure gelöstem Phenylhydrazin versetzt, zeigte eine ölige Trübung, welche nach einigen Stunden einem schwachen krystallinischen Niederschlag Platz gab<sup>2)</sup>. Von weiteren Furfurolreactionen wurden im Destillate ausgeführt: die mit  $\alpha$ -Naphthol, Cholsäure, Aethylenglycol, Codein und concentrirter Schwefelsäure. In allen diesen Portionen waren die charakteristische Färbung, sowie auch die früher beschriebenen Spectralerscheinungen wahrzunehmen.

Auf einen weiteren Nachweis des Furfurols, mit Hülfe seiner Oxydation zu Brenzschleimsäure, musste wegen der geringen Menge des zu Gebote stehenden Materials verzichtet werden, um so mehr, da die leichte Zersetzlichkeit der brenz-

1) Ann. d. Chemie, Bd. CCXLIII Heft 3. S. 314.

2) Vgl. E. Fischer, Ueber die Einwirkung des Phenylhydrazins auf Aldehyde und Ketone. Ber. d. deutsch. chem. Ges., Jahrg. XVII.

schleimsauren Salze der Erkennung selbst grösserer Mengen von Furfurol auf diesem Wege bedeutende Schwierigkeiten entgegenbringt. Ebenso wurde eine quantitative Bestimmung des gebildeten Furfurols nicht vorgenommen. Es ist sehr wahrscheinlich, dass das Furfurol bei diesem Vorgange nur zum Theil in das Destillat übergeht, sonst aber zur Bildung verschiedener gefärbter Verbindungen zurückgehalten wird. Andererseits könnte man aus dem gebildeten Furfurol nur dann auf die Menge des Kohlehydrats Schlüsse ziehen, wenn man wüsste, welcher Natur dieses sei.

Ausser dem Fibrin wurde noch aus Erbsenkörnern dargestelltes Globulin bezüglich seines Verhaltens beim Erhitzen mit concentrirter Schwefelsäure untersucht. Die Darstellung und Reinigung des Globulins geschah durch oft wiederholtes Lösen desselben in Salzlösung und Fällung aus letzterer mit Wasser, so dass jede Spur einer Beimengung von Kohlehydraten vollkommen auszuschliessen war. Die Bildung des Furfurols wurde hier genau eben so wie bei dem Fibrin bei der Einwirkung starker Schwefelsäure constatirt.

Hiermit ist festgestellt, dass kohlehydratfreie, reinste Eiweisssubstanzen bei der Einwirkung starker Säure Furfurol liefern. Ich habe auch verschiedene andere Eiweisskörper: Albumine, Pepton, Propepton, Casein — untersucht, und stets reichliche Furfurolbildung constatirt. Da es aber mit besonderen Schwierigkeiten verknüpft ist, die letztgenannten Eiweisskörper frei von den geringsten Spuren von Kohlehydraten zu erhalten, möchte ich nur die beiden erstgenannten Versuche als absolut beweisend für die Bildung von Furfurol aus Eiweiss bezeichnen.

Durch die geschilderten Versuche ist eine Reaction, welche den Eiweisskörpern und den Kohlehydraten gemeinsam ist, mit Sicherheit erwiesen. Die Bildung des Furfurols aus den Eiweisskörpern zeigt zum ersten Male auf chemischem Wege nahe Beziehungen zwischen Kohlehydraten und Eiweisskörpern an.

Dass der Nachweis solcher Beziehungen durch das physiologische Experiment als vollständig erbracht anzusehen ist

(besonders durch die Versuche v. Mering's), ist schon früher erörtert worden. Der Nachweis dieser Beziehungen würde natürlich an Bedeutung wesentlich verlieren, wenn es gelänge, die Furfurolbildung — caeteris paribus — auch bei solchen Substanzen zu erzielen, welche mit den Kohlehydraten tatsächlich in keiner Beziehung stehen. Ich selbst habe viele Experimente in dieser Beziehung gemacht, — sämtlich mit negativem Erfolg. Hierbei sind besonders zu erwähnen die Versuche mit den verschiedenen Amidosäuren, welche bei der Eiweisszersetzung gebildet werden. Diese lieferten kein Furfurol.

Noch interessanter in dieser Beziehung dürfte die Thatsache sein, dass auch der reinste Leim keine Furfurolreaction gibt, zumal der Leim — wie es schon Cl. Bernard gezeigt hat — zu der grossen Zahl der Substanzen gehört, welche, in den Organismus eingeführt, eine Steigerung der Glycogenbildung in der Leber bedingen können. Dieser Umstand könnte darauf hinweisen, dass die Glycogenvermehrung nach Leimfütterung im Sinne der Ersparnistheorie aufzufassen sei. Weitere Versuche, insbesondere unter Anwendung der Erzeugung von künstlichem Diabetes mellitus mit Hilfe des v. Mering'schen Experimentes, werden hierüber eine bestimmtere Entscheidung bringen können.

Die Bildung von Furfurol aus den Eiweisskörpern erklärt auch die von Seegen<sup>1)</sup> als Einwendung gegen die Einschlägigkeit der Molisch'schen Zuckerreaction mit  $\alpha$ -Naphthol und concentrirter Schwefelsäure erbrachte Beobachtung, dass absolut reine Eiweisskörper diese Zuckerreactionen ebenfalls theilen. Ohne Frage beruht diese Erscheinung auf der Bildung von Furfurol, welches dann mit  $\alpha$ -Naphthol und Schwefelsäure die beschriebene Violettfärbung bedingt. Es ist jetzt aber ebenso leicht verständlich, warum der Harn eiweissfrei sein soll, wenn man in ihm eine Furfurolreaction zur Bestimmung der Kohlehydrate ausführen will.

Der Nachweis der Furfurolabspaltung aus den Eiweisskörpern unter dem Einflusse von Säuren ergibt endlich auch

1) Centralblatt f. d. med. Wiss., XXIV. Jahrg., 1886. No. 45, S. 802.

eine einfache Erklärung der schon seit langer Zeit bekannten Farbenercheinungen, welche bei der Behandlung von Eiweiss mit Säuren hervorgerufen werden können. Hieher gehört die Blau- bis Violettfärbung, welche mit concentrirter Salzsäure bei den meisten Eiweisskörpern vorübergehend hervorgerufen werden kann<sup>1)</sup>, ferner die von Adamkiewicz<sup>2)</sup> beschriebenen Farbenreactionen des Eiweiss, welche mit Essigsäure und Schwefelsäure erzeugt werden.

Gelänge es nachzuweisen, dass das Furfurol auch innerhalb des Organismus abgespalten wird, so wäre damit wahrscheinlich der Schlüssel gegeben für ein Verständniss der Bildung zahlloser Farbstoffe im Pflanzen- und Thierreiche. Es würde dann die von A. Baeyer<sup>3)</sup> schon vor Jahren vermuthete Beziehung des Chlorophyllfarbstoffes zu gewissen Verbindungen des Furfurols mit Phenolen eine thatsächliche Begründung gewinnen können.

Zum Schlusse erfülle ich eine angenehme Pflicht, indem ich Herrn Prof. Baumann für die freundliche Unterstützung bei diesen Untersuchungen meinen verbindlichsten Dank abstatte.

1) Vgl. u. A. L. Liebermann, Centralblatt f. d. med. Wiss., XXV. Jahrg., 1887, No. 18.

2) Pflüger's Archiv f. d. ges. Physiol., Bd. IX, S. 157.

3) Berichte d. deutsch. chem. Ges., Jahrg. V, S. 26.