

Eine neue Methode zum Nachweis von Glukosamin und ihre Anwendung auf die Spaltungsprodukte der Mucine.

Von
H. Steudel.

(Aus dem physiologischen Institut zu Heidelberg.)
(Der Redaction zugegangen am 20. December 1901.)

Unsere Kenntnisse von der chemischen Zusammensetzung der Eiweisskörper haben in dem letzten Jahrzehnt überraschende Fortschritte¹⁾ gemacht. Während noch zu Liebig's Zeiten die Monoamidosäuren und das von Liebig selbst entdeckte Tyrosin die einzigen bekannten krystallinischen Spaltungsprodukte bildeten und der Rest, der sich nicht weiter auflösen liess, der Hypothese weiten Spielraum gestattete, haben sich heute die Verhältnisse umgekehrt: wir kennen von sehr vielen Eiweisskörpern fast die gesammte Menge der Spaltungsprodukte als wohlcharakterisirte krystallinische Körper, und der Phantasie ist es heute durchaus nicht mehr erlaubt, mit wohlklingenden Namen uns über unsere Unkenntniss hinwegzutäuschen. Wir verdanken diesen Fortschritt unseres positiven Wissens der systematischen Forschung, die in zielbewusster Weise die einzelnen markanten Eigenschaften der Eiweissstoffe bis auf ihre letzten Spaltungsprodukte verfolgt hat; so hat uns z. B. der Stickstoffgehalt der Eiweisskörper den Weg zu den Diaminosäuren gewiesen, der Schwefelgehalt hat uns zum Cystin geführt und der Phosphorreichtum vieler Proteide war die Veranlassung, eine neue Klasse von Eiweisskörpern, die Nucleine, aufzustellen. In derselben Weise hat die Fähigkeit mancher Eiweisskörper,

¹⁾ A. Kossel. Ueber den gegenwärtigen Stand der Eiweisschemie. Berichte der deutsch. chem. Gesellsch., Jahrg. 34. 3214.

nach dem Sieden mit verdünnten Säuren Kupferoxyd in alkalischer Lösung zu reduciren, den Begriff der Verbindung von Eiweiss mit einer reducirenden Gruppe entstehen lassen und zahlreiche Untersucher haben sich mit der Isolirung und Charakterisirung dieses Atomcomplexes beschäftigt, eine Aufgabe, die lange vergeblich und erst in jüngster Zeit mit Erfolg bearbeitet worden ist.

Das Interesse gerade für die reducirende Gruppe im Eiweissmolekül ist leicht erklärlich, weil man gefunden hat, dass sie nahe Beziehungen zu den Kohlehydraten besitzt. Da nun nach klinischen Erfahrungen, ganz besonders in den schweren Fällen von Diabetes, im Organismus Zucker aus Eiweiss gebildet wird, so kam in den Bestrebungen, dieser Beobachtung auch eine chemisch begründete Unterlage zu verschaffen, Alles auf eine exacte und zuverlässige Bestimmung der reducirenden Gruppe an, die naturgemäss zunächst als der Zuckerlieferant angesehen wurde. Hierbei hat sich nun ergeben, dass wir scharf zwischen zwei verschiedenen Atomcomplexen, die Muttersubstanzen von Kohlehydraten sein können, unterscheiden müssen, einmal der locker an das fertige Eiweissmolekül gebundenen reducirenden Gruppe und zweitens einer solchen, die fest und als wesentlicher Bestandtheil dem Eiweissmolekül selbst eingefügt ist und nur bei vollkommener Zertrümmerung desselben als Furfurol erscheint. Während sich nun die Untersuchung dieser letzteren Gruppe als äusserst schwierig erwiesen hat und wir ausser den schönen Arbeiten v. Udránszky's¹⁾ fast keine unsere Kenntnisse in zuverlässiger Weise fördernde Forschungen besitzen, sind wir über das Vorkommen und das Verhalten der locker gebundenen Gruppe schon seit längerer Zeit etwas besser orientirt. Sicher nachgewiesen ist sie in der Grundsubstanz des Knorpels, in den Mucinen und den ihnen nahe stehenden Mucoiden, und ferner kommt eine ganz ähnlich zusammengesetzte Substanz, die wenigstens theilweise dasselbe Spaltungsprodukt liefert, in den

¹⁾ v. Udránszky. Ueber Furfurolreactionen. I. Hoppe-Seyler's Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XII., S. 355. II. S. 377.

von Krukenberg¹⁾ unter dem Namen Hyaline zusammengefassten Körpern vor. Rechnet man endlich noch dazu die von Kossel²⁾ in der Hefenucleinsäure, von Walter³⁾ unter den Spaltungsprodukten des Paranucleins aus Ichthulin und die von Hammarsten⁴⁾ im Pankreasnucleoproteid gefundene reducirende Gruppe, so sind damit unsere Kenntnisse im Grossen und Ganzen skizzirt. Auch in dem Molekül der in der Thymusdrüse vorhandenen Nucleinsäure und der Nucleinsäure aus den Spermatozoen des Störs muss nach den Untersuchungen Kossel's⁵⁾ ein Kohlehydratcomplex vorhanden sein, der zwar nicht zur Bildung eines reducirenden Zuckers Veranlassung gibt, wohl aber bei Einwirkung von Schwefelsäure bei höherer Temperatur Lävulinsäure liefert. So konnten Kossel⁶⁾ und Neumann nicht unbeträchtliche Mengen Lävulinsäure aus Thymusnucleinsäure gewinnen, ebenso Noll⁷⁾ aus

1) Krukenberg, Verhandl. d. physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg 1883. — Weitere Mittheilungen über die Hyalogene. Zeitschr. f. Biologie, Bd. 22, S. 264.

2) A. Kossel, Ueber die chemische Zusammensetzung der Zelle. Sitzung d. physiol. Gesellsch. zu Berlin. in du Bois-Reymond's Arch. f. Physiologie, 1891, Bd. 78, S. 181. — Ueber die Nucleinsäure. Ebenda. Bd. 80, S. 157. 1893. — A. Kossel u. A. Neumann, Ueber die Spaltungsprodukte d. Nucleinsäure. Sitzungsber. d. Akad. d. Wissensch. z. Berlin 1894. Bd. 17, S. 6. — Dieselben: Ueber die Spaltungsprodukte der Nucleinsäure. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 26, S. 2754. Bd. 27, S. 2217.

3) G. Walter, Zur Kenntniss des Ichthulins und seiner Spaltungsprodukte. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. XV, S. 488.

4) O. Hammarsten, Zur Kenntniss d. Nucleoproteide. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. XIX, S. 20. — E. Salkowski, Berl. klin. Wochenschrift. 1895. Nr. 17. — E. Salkowski u. Jastrowitz, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1892. Nr. 19 u. 32. — K. A. H. Mörner, Reducirende Substanz aus dem Globulin des Blutserums. Centralbl. f. Physiologie. 1893. S. 581.

5) A. Kossel, Beitrag z. Physiol. d. Kohlehydrate. Arch. f. Physiol. 1894. S. 536.

6) A. Kossel u. A. Neumann, Darstellung und Spaltungsprodukte der Nucleinsäure. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 1894. S. 2217. — Dieselben, Sitzungsber. d. k. preuss. Akad. d. Wissensch. in Berlin. 1894. Bd. 17, S. 6.

7) A. Noll, Ueber die Bildung von Lävulinsäure aus Nucleinsäuren. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXV. S. 430.

der Nucleinsäure aus den Spermatozoen des Störs und hiermit zugleich den strengen Beweis liefern, dass die fraglichen Complexe wirklich Hexakohlehydrate seien, denn nur solche liefern nach den Untersuchungen von Tollens Lävulinsäure.

Man hielt die reducirende Substanz lange Zeit für Traubenzucker, ein Irrthum, der sich bis auf Berthelot zurückführen lässt. Berthelot¹⁾ war der erste, der beim Behandeln von Chitin mit concentrirter Schwefelsäure auf die reducirende Eigenschaft der Lösung aufmerksam wurde. Auch Lücke²⁾ hielt den reducirenden Körper, den er durch Sieden mit verdünnter Schwefelsäure aus den Hüllen der Echinococcusblasen, die dem Chitin sehr nahe stehen, bis zu 50% erhalten konnte, zunächst für Traubenzucker. Als Beweis genügte ihm der positive Ausfall der Trommer'schen und Böttcher'schen Probe, die Rechtsdrehung im Polarisationsapparat und die Gährungsfähigkeit. Erst Ledderhose³⁾ ist dann in Hoppe-Seyler's Laboratorium der Stickstoffgehalt der reducirenden Substanz aufgefallen, durch seine Arbeiten wurde das Glukosamin als chemisches Individuum zweifellos festgestellt, dessen nähere chemische Beziehungen später von Tiemann⁴⁾ und Fischer⁵⁾ weiter ausgearbeitet sind, sodass heute das Glukosamin zu den gut gekannten Körpern gehört, wenn wir auch über die Natur des ihm zu Grunde liegenden Zuckers immer noch nicht die gewünschten sicheren Kenntnisse besitzen.

Die Untersucher, die sich mit den Zersetzungsprodukten

1) Berthelot. *Comp. rend.* T. 47, p. 227—230.

2) A. Lücke. Die Hüllen der Echinococcen und die Echinococcenflüssigkeit. *Virchow's Arch.* Bd. 19, S. 189.

3) G. Ledderhose. Ueber Chitin u. seine Spaltungsprodukte. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* Bd. II, S. 213. — Ueber Glykosamin. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* Bd. IV, S. 139. — *Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch.* Bd. 9, S. 1200.

4) Ferd. Tiemann. Einiges über den Abbau von salzsaurem Glukosamin. *Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch.* Bd. 17, S. 241. — Ueber Glykosamin. *Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch.* Bd. 19, S. 49. — E. Fischer. *Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch.* Bd. 19, S. 1920.

5) E. Fischer u. Ferd. Tiemann, Ueber das Glukosamin. *Ber.* Bd. 27, S. 138.

des Chondrins beschäftigten, waren im Anfange ebenfalls dem Irrthum verfallen, in dem reducirenden Körper Traubenzucker vor sich zu haben, obschon Bödeker.¹⁾ der 1854 zuerst bei der Zersetzung von hyalinem Knorpel mit Mineralsäuren das Reductionsvermögen der Zersetzungsflüssigkeit beachtet hatte, im Anfange Produkte erhalten hatte, die nicht stickstofffrei zu bekommen waren und keine Gährungsfähigkeit zeigten. 1861 fühlte er sich aber auf Grund einer Arbeit, die er gemeinschaftlich mit Fischer ausgeführt hatte, berechtigt, den von ihm zuerst gewählten Namen Chondroitsäure zurückzunehmen und die Substanz als Traubenzucker zu betrachten.

Er hatte Knorpel mit verdünnter Salzsäure bis zur kräftigen Reduction gekocht, die Flüssigkeit filtrirt und das Filtrat mit geschlammter Bleiglätte im Ueberschuss digerirt. Die filtrirte Flüssigkeit wurde eingeengt, mit absolutem Alkohol gefällt und das klare, alkoholische Filtrat mit essigsäurem Bleioxyd versetzt. Hierbei fiel aber nur ein Theil des fraglichen Zuckers aus, die Hauptmenge fiel erst, als noch NH_3 dem Bleiessig zugesetzt wurde. Nach Zerlegung des Niederschlages mit Schwefelwasserstoff resultirte eine stark reducirende Lösung, die mit kohlen-saurem Natron neutralisirt und passend eingeengt wurde. In diesem Syrup beobachtete nun Bödeker nach Zusatz von Hefe eine deutliche Gährung, er konnte nicht nur die gebildete Kohlensäure durch Kalkwasser, sondern auch im Destillat der gegohrenen Flüssigkeit Alkohol nachweisen, eine Beobachtung, die weder vor noch nach ihm ein Forscher hat machen können. Ihm selbst war ebenfalls das Resultat mit Rücksicht auf seine früheren Versuche ein sehr auffallendes, und zur Erklärung führt er an, dass er früher seinen Zucker beim Abdampfen der Wirkung einer zu concentrirten Salzsäure ausgesetzt habe; es verlöre dann der Zucker viel eher seine Gährungsfähigkeit wie seine Reductions-kraft. Schon Bödeker war übrigens die grosse Bedeutung seiner Entdeckung für die Aufhellung der Vorgänge des Stoffwechsels klar, er hat im Anschluss an seine

1) C. Bödeker u. G. Fischer, Künstliche Bildung von Zucker aus Knorpel und über die Umsetzung des genossenen Knorpels im menschlichen Körper. Ann. d. Chem. Bd. 117. S. 111. 1861.

Experimente Fütterungsversuche mit Knorpel gemacht, deren Resultate heute allerdings recht anfechtbar sind, deren Haupt-hypothese aber, dass das Chondrin durch gewisse Fermente ebenfalls eine Abspaltung seiner Kohlehydratgruppe erleide, wenige Zeit später durch Meissner¹⁾ bestätigt werden konnte. Bei Nachuntersuchungen, die die Bödeker'schen Angaben anregten, zeigte es sich nun bald, dass Traubenzucker als reducirende Substanz unter den Zersetzungsprodukten durchaus nicht in Frage kam, aber weder de Bary²⁾ noch v. Mering³⁾ gelang es, zu einem vollkommen reinen Endprodukt zu kommen. de Bary beobachtete an seinem Präparat starke Linksdrehung, die sich aber später aus dem Peptongehalt seiner Lösung erklärte, auf den auch der Stickstoff geschoben wurde, der sich trotz vieler Reinigungsversuche nicht fortbringen liess, und v. Mering fand bis zu 15,1% Stickstoff in seinen braunen, syrupösen, nach Melasse riechenden Massen, die noch lebhaftere Biuretreaction gaben, also ebenfalls zweifellos noch mit Peptonen verunreinigt waren. Aber der Erkenntniss von der wahren Natur des reducirenden Körpers näher brachte ihn ein Versuch, in dem er Knorpel 5 Stunden bei 200° im Oelbade im geschlossenen Rohr erhitzte: es liessen sich dann unter den Zersetzungsprodukten Ameisensäure und Brenzcatechin nachweisen, zwei Körper, die ebenfalls bei der Zersetzung von Kohlehydraten auftreten und die das Vorkommen einer Kohlehydratgruppe, die nun aber nicht Traubenzucker war, in dem Molekül des Chondrins sehr wahrscheinlich machten. Im Gegensatz zu Bödeker fand v. Mering den Körper in Alkohol unlöslich und konnte weder Gärung noch optische Activität an ihm beobachten. Nachdem dann noch Petri⁴⁾ einen vergeblichen Versuch unternommen hatte, durch Sättigen

1) Meissner, Untersuchungen über den Knorpel. Zeitschr. f. rationelle Medicin. Bd. 14. S. 315. 1862.

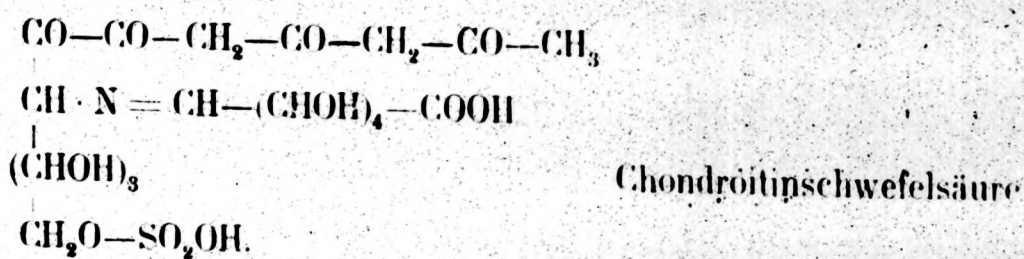
2) de Bary, Untersuchungen über Leimstoffe. Hoppe-Seyler's med.-chem. Untersuchungen. Nr. IV, S. 71. Berlin 1866-1871.

3) J. v. Mering, Ein Beitrag zur Chemie des Knorpels. Strassburger Dissertation 1873.

4) Petri, Zur Chemie des Knorpels. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 1879. Bd. 12. S. 267.

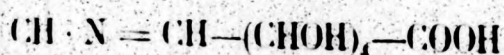
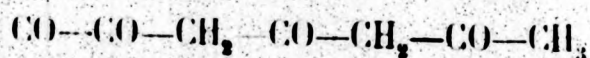
mit Quecksilberchlorid alle biuretgebenden Substanzen aus der Zersetzungsflüssigkeit zu entfernen, kam die Frage nach der Natur des reducirenden Körpers für einige Zeit zum Stillstand und erst Schmiedeberg¹⁾ nahm die Untersuchungen wieder in grossem Umfange auf.

Aus reiner Chondroitinschwefelsäure, die nach den Untersuchungen Mörner's²⁾ die Constitution einer Aetherschwefelsäure besitzt und beim Kochen mit Salzsäure einen reducirenden rechtsdrehenden Körper abspaltet, stellte Schmiedeberg zunächst den einen Paarling dar, das Chondroitin, das dann weiter in Chondrosin und Essigsäure zerfallen soll. Nach der Ansicht Schmiedeberg's hat nun das Chondrosin, das den eigentlich reducirenden Körper vorstellt, die Zusammensetzung einer Dihexose, und zwar soll es aus einem Molekül Glukosamin + einem Molekül Glukuronsäure zusammengesetzt sein, zwei Körper, deren Gegenwart er aus ihren Spaltungsprodukten erschliesst. Diese letzteren sind nun aber keineswegs so charakteristisch, dass sie zweifellos die Gegenwart von Glukosamin und Glukuronsäure im Chondrosin beweisen. Sollten aber Nachuntersuchungen die Verhältnisse bestätigen, so hätten wir Schmiedeberg als wesentlichen Fortschritt gegenüber den älteren Untersuchungen zunächst zu verdanken, dass er auf das Vorkommen von Glukosamin unter den Spaltungsprodukten des Knorpels zuerst hingewiesen hat, dann aber weiter, dass er den Begriff einer Amidodihexose geschaffen hat und damit aus den schlecht definirbaren Massen früherer Untersucher saubere chemische Körper abgetrennt hat, deren weitere und gründlichere Verarbeitung nur eine Frage der Zeit sein wird.

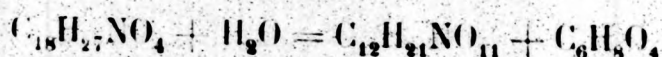


1) O. Schmiedeberg, Ueber die chemische Zusammensetzung des Knorpels. Arch. f. experim. Pathol. Bd. 28, S. 355. 1891.

2) C. Th. Mörner, Chemische Studien über den Trachealknorpel. Skandinavisches Archiv. Bd. 1, S. 216.

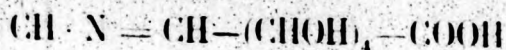


Chondroitin

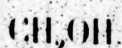


Chondroitin.

Chondrosin.



Chondrosin



Dass wirklich ein Hexakohlehydrat dem reducirenden Körper zu Grunde lag, konnte zuerst von Tollens¹⁾ einwandfrei bewiesen werden, der durch Einwirkung von Salzsäure auf Knorpel Lävulinsäure gewann. Diese Säure ist nur als Spaltungsprodukt von Kohlehydraten mit einer Kette von 6 Kohlenstoffatomen bekannt.

Die reducirende Gruppe im Chondrin ist also relativ gut bekannt, in den Mucinen und Mucoiden dagegen haben wir sie erst in der letzten Zeit durch die Arbeiten von Fr. Müller²⁾ und seinen Schülern näher kennen gelernt. Der Grund hierfür liegt wohl zum grossen Theil in der enormen Schwierigkeit, sich genügende Mengen Ausgangsmaterial zu beschaffen, die überdies noch durch ihre schleimige, fadenziehende Beschaffenheit und schlechte Filtrirbarkeit der weiteren

1) Tollens u. Wehmer. Annalen der Chemie, Bd. 243, S. 315. Tollens. Handbuch der Kohlehydrate. 2. Band. Breslau 1895.

2) Fr. Müller, Sitzungsberichte der Ges. z. Beförd. der ges. Naturw. zu Marburg 1896. Nr. 6. Juli. und ebenda: 1898. Juli. — Müller hat seine Erfahrungen über die Mucine in einem umfassenden Aufsätze in der Festschrift für C. Voit, Zeitschrift für Biologie, Bd. 24 (N. F.), 1901 zusammengestellt: Beiträge zur Kenntniss der Mucine. Der Aufsatz kam mir erst zu Gesicht, als die vorliegende Arbeit schon abgeschlossen war. — Weydemann, H. Ueber das sogenannte tierische Gummi und seine Darstellbarkeit aus Eiweiss. Marburger Dissertation. 1896. — Seemann, J. Ueber die reducirenden Substanzen, die sich aus Hühnereiweiss abspalten lassen. Marburger Dissertation 1898.

Bearbeitung und tadellosen Reindarstellung erhebliche Hindernisse in den Weg stellen. Hier war Eichwald¹⁾ der erste, der unter den Zersetzungsprodukten des Mucins der Weinberg-schnecke beim Kochen mit irgend einer Mineralsäure eine reducirende Substanz auffand, die «höchstwahrscheinlich Traubenzucker wäre». Der einzige Beweis dafür war allerdings nur seine Reductionsfähigkeit und Obolensky²⁾ unternahm es dann in Hoppe-Seyler's Laboratorium, die Eigenschaften und Zusammensetzung dieses höchst interessanten Körpers näher zu definiren.

Nach 25 bis 30 Minuten langem Kochen von Mucin aus der Submaxillarisdrüse mit sehr verdünnter Schwefelsäure wurde die Flüssigkeit kalt gestellt, mit kohlensaurem Natron neutralisirt, dann abgedampft und der Rückstand mit absolutem Alkohol aufgenommen. Nach Verjagung des Alkohols wurde in Wasser gelöst und auf Zucker geprüft, wobei sich jedoch keine Reduction von Kupferoxyd oder Wismutoxyd ergab. Ebenso wurde vergeblich versucht, der sauren Lösung durch Schütteln mit Aether die reducirende Substanz zu entziehen. Wenn Obolensky aber die Zersetzungsflüssigkeit mit Baryt oder kohlensaurem Baryt neutralisirte, dann bei niederer Temperatur einengte, so erhielt er einen farblosen, spröden Körper, der leicht löslich in Wasser war, starke Reductionskraft zeigte, aber weder zur Krystallisation zu bringen war, noch Circumpolarisationsvermögen oder Gährfähigkeit mit Bierhefe besass. Merkwürdiger Weise war dieser Körper nun nicht fällbar durch essigsames Blei und Ammoniak, eine Eigenschaft, die durchgehends bei dem reducirenden Körper aus Chondrin gefunden war. Konnte sich Obolensky nun

1) Eichwald. Ueber das Mucin der Weinberg-schnecke. Liebig's Annalen. Bd. 134. S. 177. — Beiträge zur Chemie der gewebbildenden Substanzen und ihrer Abkömmlinge. Berlin 1873. Hirschwald, S. 178.

2) Obolensky. Ueber das Mucin aus der Submaxillarisdrüse. Med. chem. Unters., Heft 4, S. 590. 1871. — Ueber das Mucin aus der Submaxillarisdrüse. Pflüger's Archiv, Bd. 4. S. 336, 1871. — Rudnew's Journal für normale und pathologische Histologie, Pharmakologie u. klin. Medicin. Bd. 3. S. 242. April 1871.

auch nicht zu einer Elementaranalyse entschliessen, da der Körper mangels seiner Krystallisationsfähigkeit kein genügendes Anzeichen von Reinheit hatte, so hat er doch in einer kurze Zeit darauf veröffentlichten russischen Arbeit einen Stickstoffgehalt von 4,42% in seinem Körper angegeben, der auch hier auf eine Verunreinigung geschoben wurde, und Obolensky musste die Frage nach der Natur des kohlehydratartigen Körpers unentschieden lassen.

Eine Reihe folgender Arbeiten hat zur Charakteristik der reducirenden Substanz nichts wesentlich Neues beigetragen, es wurde nach den obenerwähnten Methoden ihr Vorkommen in einer ganzen Reihe verschiedener Mucine und ihnen nahe stehender Körper festgestellt und die Forschung erstreckte sich mehr in die Breite wie in die Tiefe.

Rollett¹⁾ untersuchte Sehnenmucin und hielt die durch Säuren abspaltbare reducirende Substanz, dem Zuge der Zeit folgend, für Traubenzucker und Loebisch²⁾ glaubte sogar diesem Zucker die Formel $C_6H_{12}O_6$ beilegen zu dürfen. Hammarsten,³⁾ dem wir ausgezeichnete Studien über Schnecken- und Submaxillarmucin verdanken, beschränkt sich in seinem Lehrbuche⁴⁾ darauf, anzugeben, dass die aus Mucin der Submaxillaris bei der Behandlung mit gespanntem Wasserdampf abspaltbare gummiähnliche Substanz nicht stickstofffrei ist, eine Angabe, die Folin,⁵⁾ in Hammarsten's Laboratorium arbeitend, dahin präcisirte, dass er mindestens 10% Stick-

1) Rollett. Sitzungsberichte der Wiener Akademie, Bd. 39. S. 308, 1860.

2) Loebisch. Ueber das Mucin aus der Sehne des Rindes. Zeitschr. für physiol. Chemie. Bd. X. 1886, S. 40. — Obolensky. Ueber das Mucin des Nabelstranges. Pflüger's Archiv. Bd. 4. 1871. S. 349.

3) O. Hammarsten. Studien über Mucin und mucinähnliche Substanzen. Pflüger's Archiv. Bd. 36. S. 373. — Ueber das Mucin der Submaxillarisdrüse, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XII. S. 163.

4) O. Hammarsten. Lehrbuch der physiologischen Chemie. 3. Auflage. Wiesbaden, Bergmann, 1895. S. 39. Anmerk. 5.

5) O. Folin. Zur Kenntniss des sogenannten thierischen Gummis. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXIII. S. 347.

stoff in ihr gefunden habe. So hat die Angaben Landwehr's,¹⁾ der in mehreren Arbeiten versuchte, die reducirende Substanz als tierisches Gummi in die Litteratur einzuführen, und ihr die Formel $C_{12}H_{20}O_{10}$ beilegte, kein Nachuntersucher bestätigen können, immer wieder tauchte der Stickstoffgehalt der Substanz als Hinderniss auf, sie unter die Kohlehydrate einzureihen, und erst Fr. Müller war es, der einwandfrei nachwies, dass das reducirende Spaltungsprodukt die Zusammensetzung eines Amidozuckers hatte, der von ihm anfänglich Mucosamin genannt, aber bald als Glukosamin erkannt wurde, als dasselbe Glukosamin, das sich am Aufbau der Pilzcellulose,²⁾ des Chitins und der Chondroitinschwefelsäure betheiligt.

Nach Zersetzung von Mucin aus Sputum mit verdünnter Salzsäure und nachheriger möglicher Entfernung der Eiweisskörper wurde der Rückstand nach der Schotten-Baumann'schen Methode benzoylirt. Hierbei entstanden Gemische verschiedener Benzoyl ester des Glukosamins, aus denen das salzsaure Salz der Base nach Verseifung mit starker Salzsäure im geschlossenen Rohre isolirt werden und durch Analyse und krystallographische Bestimmung als solches nachgewiesen werden konnte.

Durch diese Entdeckung war man einen guten Schritt

1) H. A. Landwehr, Untersuchungen über das Mucin von *Helix pomatia* und ein neues Kohlehydrat (Achrooglykogen) in der Weinbergschnecke. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. VI, S. 75. — Ueber Mucin, Metalbumin und Paralbumin. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. VIII, S. 114. Ein neues Kohlehydrat im menschlichen Körper, S. 122. — Zur Lehre von der Resorption der Fette. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. IX, S. 361. — Ueber die Bedeutung des tierischen Gummis. Pflüger's Archiv, Bd. 39, S. 193. II. Bd. 40, S. 21.

2) E. Winterstein, Ueber ein stickstoffhaltiges Spaltungsprodukt der Pilzcellulose. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 27, 1894, S. 3113 u. Bd. 28, S. 168. — Zur Kenntniss der in den Membranen der Pilze enthaltenen Bestandtheile. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XIX, S. 522. Bd. XX, S. 342. Bd. XXI, S. 134, 152. — E. Gilson, Das Cystin und die Membranen der Pilzzellen. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 28, S. 821.

weiter in der Erkenntniss der Constitution der Mucine gekommen und es handelte sich nun darum, die Verbreitung des Glukosamins auch in den anderen mucinähnlichen Körpern festzustellen.

Hier kam zunächst das Ovomuroid in Frage, das von Neumeister¹⁾ gefunden und von Mörner,²⁾ der vor Allem seine Aehnlichkeit mit dem Mucin betonte, näher untersucht und charakterisirt war. Schon Zanetti³⁾ gab an, dass er aus ihm durch Behandeln mit starker Salzsäure Glukosamin bekommen habe, das von ihm ebenfalls benzoylirt wurde, aber erst Seemann⁴⁾ stellte dann unter Müller's Leitung die Natur des reducirenden Körpers endgültig fest.

Ferner war es sehr wahrscheinlich, dass sich nun herausstellen würde, dass der reducirende Körper der Ovarialmucoide Glukosamin sei oder dass sich wenigstens Glukosamin am Aufbau der reducirenden Substanz betheilige. Zängerle⁵⁾ hat dann auch, nach Müller's Methode arbeitend, aus dem Pseudomucin salzsaures Glukosamin darstellen können, und durch die Arbeiten von Leathes,⁶⁾ der in Schmiedeberg's Laboratorium die Methode der Darstellung des Chondrosins auf das Paramucin anwandte, ist es wahrscheinlich geworden, dass sich auch hier das Glukosamin am Aufbau einer dem Chondrosin ähnlichen Amidodihexose betheiligt, deren anderer Paarling eine reducirte Glukuronsäure, die Gulose, darstellt.

1) R. Neumeister, Zeitschrift für Biologie, N. F. Bd. 9, S. 369—373.

2) C. Mörner, Ueber eine im Hühnereiweiss in reichlicher Menge vorkommende Mucinsubstanz. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XVIII, S. 525. E. Salkowski, Ueber eine im Hühnereiweiss vorkommende Mucoidsubstanz. Centralblatt für d. med. Wissenschaften 1893, Nr. 43.

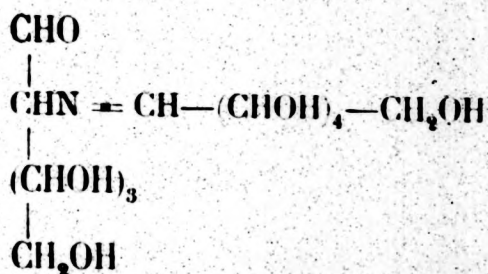
3) C. F. Zanetti, Sull' ovimucoide e sopra un nuovo Glicoproteide contenuto nel siero di sangue. Ann. di Chim. e Farmac., 1897, Nr. 12.

4) J. Seemann, Ueber die reducirenden Substanzen, die sich aus Hühnereiweiss abspalten lassen. Marburger Dissertation 1898.

5) Zängerle, Zur Kenntniss des Pseudomucins aus den Eierstockcysten. Münchener med. Wochenschrift 1900, Nr. 13.

6) Leathes, Beiträge zur Chemie der Ovarialmucoide. Archiv für experimentelle Pathologie u. Pharmakologie, Bd. 43, S. 245.

Leathes nennt den Körper Paramucosin, gibt ihm folgende Constitution:



und hat durch Spaltung mit Salzsäure im geschlossenen Rohr eine Substanz aus ihm bekommen, die die Zusammensetzung einer Amidohexose hat, die er aber nicht für salzsaures Glukosamin hält. Nicht ganz im Einklang hiermit stehen die Versuche Panzer's¹⁾ der sich vergeblich bemühte, Paramucosin zu bekommen.

Endlich hat sich das Mucin aus der Eiweissdrüse des Frosches als höchst interessanter Körper erwiesen. Schon Giacosa²⁾ hatte durch Säurespaltung aus ihm eine reducirende Substanz erhalten, die nicht vergohr, und Wolfenden³⁾ glaubte sogar, sie krystallisiren zu können, und gab bestimmt einen Stickstoffgehalt in ihr an. Schulz und Ditthorn⁴⁾ nun haben die Untersuchungen wieder aufgenommen und halten den fraglichen Amidozucker, um den es sich hier handelt, für Galactosamin, sodass also mehrere isomere Amidoderivate von Zucker im Thierkörper vorkommen.

Nicht schliessen kann ich diese Uebersicht, ohne nicht kurz die zahlreichen Untersuchungen zu erwähnen, die Pavy⁵⁾ durch seine Physiologie der Kohlenhydrate angeregt hat. Bei lange fortgesetztem Sieden mit verdünnten Säuren erhalten fast alle Eiweisskörper das Vermögen, Fehling'sche

1) Th. Panzer, Ueber das Eierstockcolloid. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXVIII, S. 363.

2) Giacosa, Studien über die Zusammensetzung des Eies und seiner Hüllen. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. VII, S. 40.

3) N. Wolfenden, Ueber gewisse Bestandtheile der Eier von *Rana temporaria*. Journal of Physiology, Bd. 5, S. 91.

4) Fr. N. Schulz u. Fr. Ditthorn, Galactosamin, ein neuer Amidozucker, als Spaltungsprodukt d. Glykoproteids der Eiweissdrüse des Frosches. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXIX, S. 373.

5) Pavy, Physiology of the Carbohydrates. London 1894.

Lösung zu reduciren, und Pavy glaubt nun hierin einen Grund zu finden, die grosse Mehrzahl der Eiweisskörper als Glukoside betrachten zu dürfen, eine Ansicht, die schon eine geraume Zeit vor ihm Krukenberg¹⁾ ebenfalls ausgesprochen hatte, ohne jedoch damit durchzudringen. Aber schon Drechsel²⁾ warnt vor einem solchen raschen Schluss, auch er hatte gefunden, dass Eiweisskörper sogar beim langen Stehen mit Fehling'scher Lösung in der Kälte diese reduciren, spricht sich aber über die Natur der reducirenden Substanz äusserst vorsichtig aus, da Reductionsfähigkeit durchaus kein Beweis für Kohlehydrate sei. Wenn Pavy nun seine Ansichten durch die Darstellung von Osazonen glaubte besser stützen zu können, so haben seine Nachuntersucher ihm mit Recht den Vorwurf gemacht, nicht genügend reines Ausgangsmaterial verwendet zu haben. Wie wenig überhaupt die Darstellung von Osazonen geeignet ist, sich für das Vorhandensein von Kohlehydratgruppen unter den Zersetzungsprodukten der Eiweisskörper sichere Grundlagen zu verschaffen, zeigen die Untersuchungen von Krawkow,³⁾ der aus Ovomuroid kein Osazon gewinnen konnte, trotzdem nach den Versuchen von Seemann⁴⁾ und Zanetti⁵⁾ das Vorhandensein von Glukosamin in ihm zweifellos festgestellt ist, ganz abgesehen davon, dass uns das Osazon nicht einmal mit Sicherheit das fragliche Kohlehydrat finden lässt. Traubenzucker und Glukosamin geben ja nach Tiemann's Untersuchungen dasselbe Phenylglukosazon. Auch

1) C. Fr. W. Krukenberg. Die reducirend wirkenden Atomgruppen in den Eiweissstoffen. Centralblatt für d. med. Wissenschaften, 1885, Nr. 35. — Die Beziehungen der Eiweissstoffe zu den albuminoiden Substanzen und den Kohlehydraten. Sitzungsber. d. Jenaischen Gesellschaft f. Medicin und Naturwissenschaften 1885.

2) E. Drechsel, Ueber die Reduction alkalischer Kupferlösungen durch Eiweisskörper. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXI, S. 68.

3) N. Krawkow, Ueber die Kohlehydratgruppe im Eiweissmolekül. Pflüger's Archiv, Bd. 65, S. 282.

4) J. Seemann, Ueber die reducirenden Substanzen, die sich aus Hühnereiweiss abspalten lassen. Marburger Dissertation 1898.

5) G. U. Zanetti, Sull' ovimucoido e sopra un nuovo Glicoproteide contenuto nel siero di sangue. Ann. di Chim. e Farmac., 1897, Nr. 12.

Katharina Mitjukoff¹⁾ hat darauf hingewiesen, dass man bei der Gewinnung von Osazonen argen Täuschungen anheimfallen kann. Sie erhielt bei einem Versuche einen in der Kälte ausfallenden krystallinischen Niederschlag von feinen Nadeln, der sich aber bei näherer Untersuchung als Acetylphenylhydrazid herausstellte, $C_6H_5NH-NHCOCH_3$ (Schmelzpunkt 127,5), und konnte leicht denselben Körper bekommen, wenn sie eine reine Lösung von Phenylhydrazin in Essigsäure mit einem Ueberschusse von essigsaurem Natron längere Zeit im kochenden Wasserbade erhitzte.

Ueberblicken wir noch einmal kurz die durch so viele Arbeit erreichten Resultate, so sehen wir, dass offenbar zwischen den gesammten Mucinen und Mucoiden ein nicht nur äusserlicher Zusammenhang besteht, bei fast allen kommt das Glukosamin oder doch ein Amidozucker unter den Zersetzungsprodukten vor. Damit sind nun auch die Bestrebungen, die Bildung von Zucker aus Eiweiss im Organismus chemisch zu erklären, wenigstens nach einer Seite hin abgeschlossen. Das Glukosamin ist nach den Untersuchungen von Fabian²⁾ kein Zuckerlieferant, und die reducirende Gruppe der Eiweisskörper kann also aus diesem Grunde nicht für die Zuckerbildung verantwortlich gemacht werden.

Nun erhebt sich aber eine andere wichtige Frage. Ist das Glukosamin als solches mit dem Eiweissrest verkettet, oder bestehen die Ansichten von Schmiedeberg und Leathes zu Recht, die eine Dihexose annehmen? Durch die bisherigen Methoden konnte hierfür kein befriedigender Aufschluss erlangt werden, denn gerade die Darstellungsmethode Müller's bietet keine sichere Garantie dafür, ob nicht doch eine Dihexose durch die Benzoylirung und nachherige Verseifung zerstört wird, ganz abgesehen davon, dass die Benzoyl ester meistens Gemenge verschieden hoch substituierter Glukosamine sind, die schlecht krystallisiren und nie gut stimmende Analysenzahlen

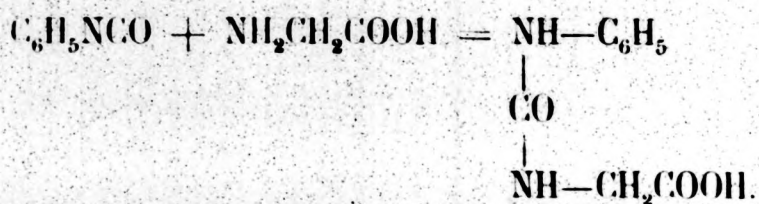
1) Katharina Mitjukoff: Ueber das Paramucin. Archiv für Gynäkologie, Bd. 49, Heft 2.

2) E. Fabian, Das Verhalten des salzsauren Glukosamins im Thierkörper. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXVII, S. 167.

liefern. Dass diese Dihexosen durch Erhitzen mit Salzsäure im geschlossenen Rohr gespalten werden, wissen wir durch die Versuche von Leathes.¹⁾ Vergleicht man ferner die Reduktionskraft der ursprünglichen Lösung mit der Menge des am Ende erhaltenen Glukosamins, so stehen beide in einem auffallenden Missverhältniss, das doch darauf hinzuweisen scheint, dass der reducirende Complex nicht aus Glukosamin allein besteht. Diese Annahme würde auch erklären, warum es so schwer fällt, wirklich reine Osazone aus der Zersetzungsflüssigkeit direkt zu bekommen; es fielen dann neben Phenylglukosazon noch Verbindungen unbekannter Kohlehydrate.

Diesen Fragen bin ich näher getreten, als es mir ge-
glückt war, eine neue Methode zur Isolirung und Identificirung des Glukosamins auszuarbeiten.

Die Methode gründet sich auf die Beobachtung von Paal,²⁾ der Phenylisocyanat mit α -Aminosäuren condensirte und Phenylureidosäuren erhielt. Das Verfahren war schon vorher von Kühn³⁾ angewandt worden, doch hatte dieser freie Säure, α -Aminopropionsäure und Phenylecyanat aufeinander einwirken lassen und zunächst dabei Gemische von Diphenylharnstoff und Methylphenylhydantoin erhalten, aus welchem erst beim Behandeln mit alkoholischem Kali die gesuchte α -Phenylureidopropionsäure gewonnen werden konnte. Paal liess dagegen die Natron- oder Kalisalze der Säure mit Phenylecyanat reagiren und bekam dann beim Ansäuern den gesuchten Körper. So gaben z. B. Aminoessigsäure und Phenylecyanat Phenylureidoessigsäure:

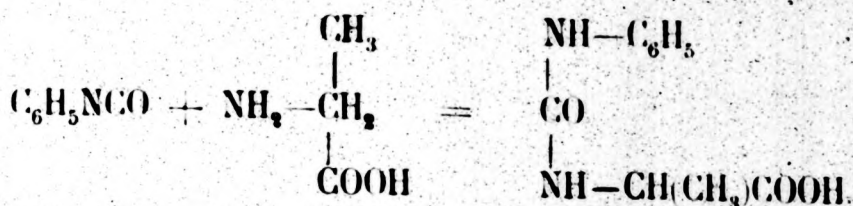


1) Leathes. Beiträge zur Chemie der Ovarialmucoide. Archiv für experimentelle Pathologie u. Pharmakologie, Bd. 43, S. 245.

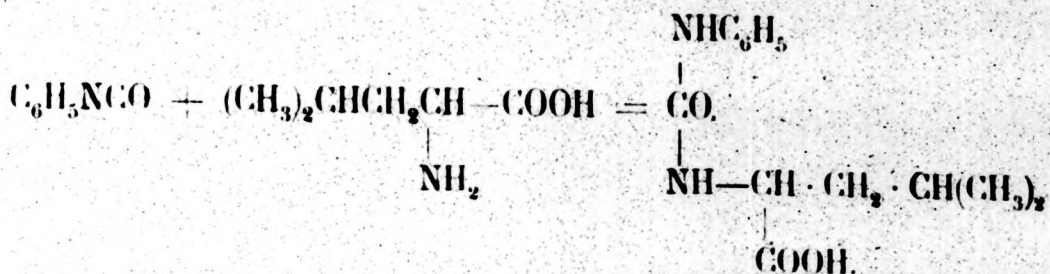
2) C. Paal. Ueber die Einwirkung von Phenylisocyanat auf organische Aminosäuren. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 27, S. 974.

3) B. Kühn. Ueber die Einwirkung von Phenylisocyanat auf Amidverbindungen. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 17, S. 2880.

Alanin und Phenylcyanat lieferten α -Phenylureidopropion-
säure:



Von E. Fischer¹⁾ ist dieselbe Methode zur Darstellung
von Phenylcyanatleucin benutzt worden:



Schon Kühn hatte geäußert, dass es eine allgemeine
Eigenschaft primärer und secundärer Amine sei, Phenylcyanat
zu addiren, und es war nun möglich und zu erwarten,
dass das Glukosamin, dem man allgemein die Formel
 $\text{CH}_2\text{OH—(CHOH)}_3\text{—CHNH}_2\text{—COH}$ gibt, sich ebenfalls würde auf
Grund seiner NH_2 -Gruppe mit dem Phenylisocyanat verbinden
lassen.²⁾ Die Versuche entsprachen vollkommen der Voraus-
setzung: es geht die Kuppelung leicht von Statten, wenn man
die Reaction in einer schwach alkalischen Lösung vor sich
gehen lässt: das Additionsprodukt fällt sofort aus, der Grund hier-
für liegt wohl in den basischen Eigenschaften des Glukosamins.

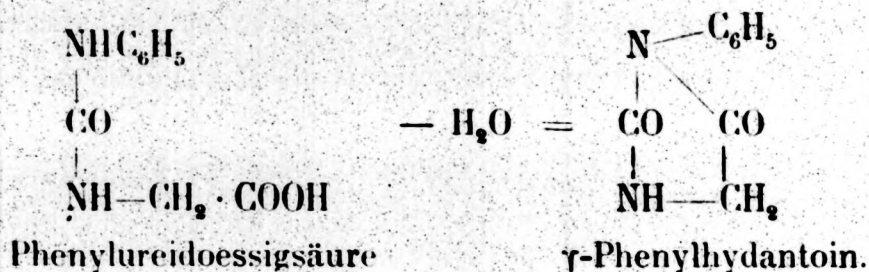
Zu einer Lösung von Glukosaminchlorhydrat, $2,25:30\text{H}_2\text{O}$,
das in bekannter Weise aus Hummerschalen gewonnen war,
wurde zunächst etwas über die berechnete Menge Kalilauge,
10 ccm. N-Kalilauge, hinzugefügt, um das Chlor zu binden und
dauernd alkalische Reaction zu haben. Dann wurde stark ge-
kühlt und tropfenweise unter Schütteln Phenylcyanat, 1,19 g,
hinzugefügt, so lange, bis auch nach längerem Stehen der
stechende Geruch des Cyanats noch wahrnehmbar war. Beim
Stehen in der Kälte erstarrte nun nach einiger Zeit die ge-

1) E. Fischer. Spaltung racemischer Aminosäuren in die optisch
activen Componenten. III. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 33,
S. 2381.

2) H. Steudel. Ueber den Nachweis von Amidozuckern. Zeit-
schrift f. physiol. Chemie, Bd. XXXIII, S. 223.

sammte Flüssigkeit zu einer gallertigen Masse, die sich leicht als zusammenhängende Klumpen, die die Form des Gefässes bewahrten, hin und her schütteln liess. Der äusserst voluminöse Niederschlag liess sich jedoch leicht absaugen und es hinterblieb ein stark schwindendes, schneeweisses, amorphes Pulver auf dem Filter. Es konnte mit Wasser, in dem es sehr schwer löslich war, leicht gewaschen werden und zeigte gegen Fehling'sche Lösung starkes Reduktionsvermögen.

Unzweifelhaft hatte sich also das Glukosamin mit dem Phenylecyanat verbunden, aber eine lange Zeit wollte es mir nicht glücken, den neuen Körper in eine analysirbare Form zu bringen. Wohl löste sich der Körper in heissem Wasser und heissem Alkohol u. s. w. leichter auf wie in kaltem, aber beim Abkühlen erschienen immer wieder dieselben gallertigen Massen. Ich versuchte dann, ein Anhydrid aus ihm darzustellen nach dem Vorgange Mouneyrats,¹⁾ der die Phenylureidosäuren durch Kochen mit 25%iger Salzsäure in Phenylhydantoine verwandelt hat:



Beim Kochen mit Salzsäure schieden sich aber sofort schwarzbraune Massen aus, ein Zeichen, dass die Substanz zerstört wurde: erst als ich die Substanz mit 20% Essigsäure längere Zeit, etwa 1 Stunde, auf dem kochenden Wasserbade erwärmte, fiel beim Erkalten das gesuchte Anhydrid in schweren grossen Krystallen aus.

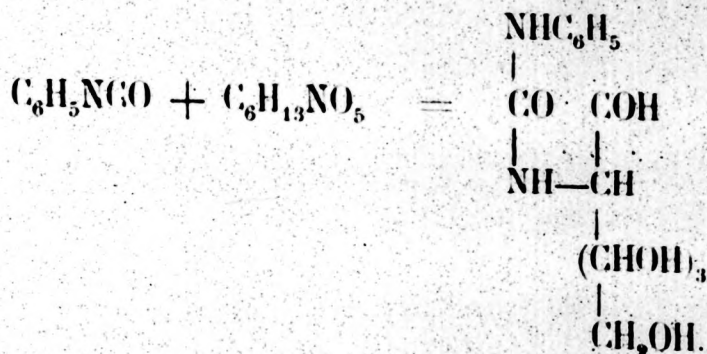
Nach mehrmaligem Umkrystallisiren aus heissem Alkohol und Trocknen mit Aether erwies sich die Substanz als analysenrein, sie verlor, bei 110° getrocknet, nichts an Gewicht und lieferte bei der Analyse Werthe, die auf die Formel $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5$ stimmten:

¹⁾ A. Mouneyrat, Verwandlung der α -Aminosäuren in Phenylhydantoine. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 33, S. 2393.

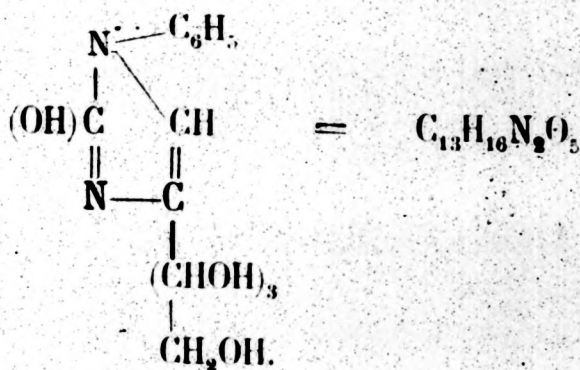
0.1390 g gaben 12.2 ccm. N bei $t = 21^\circ$ und $p = 75,8$.
 0.1350 " " 12 " N " $t = 23^\circ$ " $p = 75,5$.
 0.1424 " " 0.2903 g CO_2 und 0.0747 g H_2O .
 0.1484 " " 0.3017 " CO_2 " 0.0780 " H_2O .

Berechnet für $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5$:	Gefunden:
C = 55,67 %.	C = 55,61 %, 55,46 %.
H = 5,76 %.	H = 5,87 %, 5,88 %.
N = 10,02 %.	N = 10,03 %, 10,04 %.

Der Körper reducirt im Gegensatz zu dem ersten amorphen Produkt nicht mehr Fehling'sche Lösung, es muss also durch die Anhydridbildung die reducirende Gruppe alterirt sein:



Während der erste Körper ein einfaches Additionsprodukt vorstellt, kommt dem Anhydrid folgende Formel zu, analog den verschiedenen Imidazolderivaten, die von Wohl und Marckwald²⁾ näher studirt worden sind:



α -Tetraoxybutyl- γ -phenyl- μ -hydroxy-imidazol. 2)

1) Wohl und Marckwald, Ueber Condensationsprodukte aus Amidoacetal. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 22, S. 568.

2) Nach Abschluss dieser Arbeit und nachdem ich schon das Wesentliche meiner neuen Methode vorläufig mitgetheilt hatte (Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. XXXIII, S. 223, 10. Juli 1901), haben C. Neuberg und H. Wolff in den Berichten der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. 34, S. 3840 (Ueber den Nachweis von Chitosamin, 12. November 1901) einen Körper beschrieben, den sie erhielten, wenn sie Phenylsulfocyanat an Stelle von Phenylisocyanat zur Kuppelung mit Glukosamin verwendeten. Diese an und für sich unbedeutende Modification der von mir angegebenen Methode genügt aber, wie mir wohl

Die Substanz ist in kaltem Wasser und Alkohol wenig löslich, leicht in heissem Wasser und heissem Alkohol, unlöslich in Aether, die wässrige Lösung reagirt neutral und gibt mit Metallsalzen keine Fällung.

Eine heissgesättigte wässrige Lösung wurde 1 Tag lang bei Zimmertemperatur stehen gelassen, es enthielten dann:

I. 50 ccm. Filtrat 0,3232 g Substanz = 0,6464 g in 100 ccm.

II. 50 ccm. Filtrat enthielten 0,3134 g Substanz = 0,6268%, so dass also 1 Theil Substanz 156,25 Theile H₂O zur Lösung gebraucht.

Die Löslichkeit in Alkohol ist noch geringer.

Die Substanz fängt bei 200° an sich zu bräunen und schmilzt glatt bei 210° (uncorr.), so dass ihr Schmelzpunkt zur Charakterisirung wohl geeignet ist.

Im Polarisationsapparat erwies sich der Körper als rechtsdrehend: $l = 4$ dm, $t = 20^\circ$, $p = 0.6498$, $d = 1.0010$.
 $\alpha = + 2,00$.

$$[\alpha] = + 76,9^\circ.$$

Die spezifische Drehung beträgt für salzsaures Glukosamin nach Ledderhose in 16,5%iger Lösung $[\alpha]_D = + 70,15^\circ$, nach Landolt für 5%ige Lösung $+ 74,64^\circ$.

Die Bestimmungen wurden in einem grossen Schmidt-Hänsch'schen Halbschattenapparat gemacht.

Zunächst kam es nun darauf an, festzustellen, ob die Umsetzungen während der Reaction genügend quantitativ verliefen, um die neue Methode als brauchbar für die Aufsuchung und annähernde Bestimmung des Glukosamins resp. der Glukosamine enthaltenden Gruppe unter den Spaltungsprodukten der Proteide erscheinen zu lassen.

bekannt war, ihre Verwendung zur Isolirung des Glukosamins aus den Zersetzungsflüssigkeiten der Eiweisskörper erheblich zu beeinträchtigen, denn die Vereinigung von salzsaurem Glukosamin mit Phenylsenföhl findet nach Neuberg und Wolff am besten im Aceton statt. Da es mir in meiner ersten kurzen Mittheilung nur auf eine Skizzirung des Kernes der neuen Methode ankam, habe ich natürlich das Phenylsulfoeyanat nicht erwähnt, ebenso wenig wie die Constitution des neuen Körpers, die sich aus den in Reaction getretenen Körpern von selbst ergab und für die Isolirung des Glukosamins von untergeordneter Bedeutung war.

Dazu wählte ich folgende Versuchsanordnung:

I. 1 g salzsaures Glukosamin wurde in 10 ccm. Wasser gelöst, mit 5 ccm. Normalkalilauge unter starker Kühlung versetzt und tropfenweise unter Schütteln allmählich 0,6 g Phenylcyanat hinzugefügt. Der Niederschlag wurde nach einigem Stehen abfiltrirt, getrocknet und gewogen. Die Ausbeute betrug 1,26 g, etwa 90% der theoretisch berechneten Menge.

II. In derselben Weise wurde mit einer Lösung von 1 : 100 verfahren: Ausbeute 1,10 g = 80% der theoretisch berechneten Menge.

III. Ferner wurde eine 0,5%ige Lösung von salzsaurem Glukosamin in analoger Weise behandelt. Ausbeute 0,45 g = etwa 65% der Theorie.

Die Filtrate reducirten sämmtlich noch, und ich muss es unentschieden lassen, ob diese Reduction von dem der Reaction entgangenen Glukosamin herrührte oder von einem geringen in Lösung gebliebenen Antheile des Additionsproduktes, das in Wasser zwar sehr schwer, aber nicht absolut unlöslich ist. Jedenfalls zeigen aber die Versuche, dass auch in verdünnten Lösungen noch eine ganz gute Ausbeute erhalten wird, so dass also von dieser Seite kein Hinderniss für die Anwendung der Methode vorlag, besonders da die Umwandlung in das Anhydrid sich nachher quantitativ vollzieht.

Die Trennung von den Amidosäuren, die sich später vielleicht unter den Zersetzungsprodukten der untersuchten Eiweisskörper vorfinden würden, gestaltete sich nun höchst einfach; ihre Additionsprodukte sind in alkalischer Lösung leicht löslich und fallen erst beim Ansäuern aus, während man das Glukosaminphenylcyanat vorher bei alkalischer Reaction leicht abfiltriren kann.

Zur Illustration diene folgender Versuch:

1 g salzsaures Glukosamin und 1 g Leucin werden in 100 ccm. Wasser gelöst, mit 15 ccm. Normalkalilauge versetzt, stark gekühlt und mit Phenylcyanat tropfenweise versetzt und geschüttelt, bis der stechende Geruch des Cyanats auch nach längerem Stehen nicht verschwunden ist. Nach einigen Stunden wird filtrirt, der Niederschlag getrocknet und gewogen,

das Filtrat wird mit Salzsäure angesäuert und am nächsten Tage die krystallinisch erstarrte Phenylcyanatverbindung des Leucins auf einem Filter gesammelt und ebenfalls getrocknet und gewogen. Ausbeute an Glukosaminphenylcyanatverbindung 1,00 g, an Leucinphenylcyanat 1,76 g. Aus der Phenylcyanatverbindung des Glukosamins wurde durch einstündiges Erwärmen auf dem Wasserbade das Anhydrid dargestellt, das seinen Schmelzpunkt bei 210° hatte, also ein Zeichen, dass die Substanz rein war.

Zum Schluss habe ich dann noch in einem Versuch geprüft, wie sich das Glukosamin in der Zersetzungsflüssigkeit eines Eiweisskörpers, des Caseins, gegen Phenylcyanat verhielt.

10 g Casein von Dr. Grübler-Dresden wurden mit 200 ccm. 3% iger Salzsäure 2 Stunden lang am Rückflusskühler gekocht, abgekühlt und zu 100 ccm. der filtrirten Lösung 1 g salzsaures Glukosamin hinzugefügt, mit Kalilauge neutralisirt und dann noch 10 ccm. Normalkalilauge zugesetzt. Jetzt wurde in bekannter Weise weiter verfahren, nur mit dem Unterschiede, dass häufig die Reaction der Flüssigkeit geprüft wurde. Vorversuche hatten gezeigt, dass diese bei ungenügendem Alkalizusatz leicht sauer werden konnte und so den glatten Ablauf der Reaction zu hindern fähig war. Näherte sich also die Reaction der neutralen, so wurde wieder etwas Alkali hinzugefügt.

Die Flüssigkeit erstarrte auch in diesem Falle nach einigem Stehen in der Kälte zu der bekannten Gallerte, ich erhielt zum Schluss eine Ausbeute von 0,93 g des Anhydrids, das, wie sein Schmelzpunkt erwies, vollkommen rein war.

So ausgerüstet, konnte ich mich zur Untersuchung der reducirenden Gruppe der Eiweisskörper wenden. Die Methode bietet den grossen Vortheil, dass gar keine erheblichen Eingriffe zur Isolirung des Glukosamins nöthig sind und noch die kleinsten Mengen mit Sicherheit erkannt werden können. Es musste sich nun herausstellen, ob eine Monoamidohexose als solche vorlag, oder ob sie noch mit einer bislang unbekanntem Componente verbunden den Paarling des betreffenden Eiweiss-

körpers bildete. Da die Bedingungen der Kuppelung mit Phenylcyanat an das Vorhandensein einer freien NH_2 -Gruppe geknüpft waren, so konnten ferner je nach dem positiven oder negativen Ausfall des Versuches die von Schmiedeberg und Leathes aufgestellten Formeln an Wahrscheinlichkeit verlieren oder gewinnen.

Als Ausgangsmaterial, das verhältnissmässig noch am leichtesten zu beschaffen war, wählte ich im Anfange meiner Untersuchungen Submaxillarismucin.

Aus den frisch vom Schlachthofe bezogenen Submaxillarisdrüsen von Rindern versuchte ich nun nach der Methode von Hammarsten¹⁾ das Mucin zu gewinnen. Die sauber präparirten und zerkleinerten Drüsen wurden mit Wasser extrahirt und dem klar filtrirten Extracte sehr vorsichtig so viel starke Salzsäure zugesetzt, bis das Anfangs gefällte Mucin sich gerade eben wieder aufgelöst hatte und die Mischung etwa 1,5 ‰ HCl enthielt. Nun wurde mit 3 Volumen Wasser sofort verdünnt, aber die dabei ausfallende Menge Mucin war nur eine äusserst minimale, in manchen Versuchen entstand nicht einmal eine Spur einer Trübung. Warum die Methode hier im Stich liess, vermag ich nicht zu sagen, ich dachte vor Allem an einen zu grossen Reichthum von Neutralsalzen in der Flüssigkeit, die nach Hammarsten eine Ausfällung des Mucins verhindern.²⁾ Ich habe in der Folge also das Submaxillarismucin nach der älteren Methode bereitet. Die klar filtrirten wässerigen Drüsenextracte wurden mit einem Ueberschuss von Essigsäure versetzt, der Niederschlag absitzen gelassen, die Flüssigkeit decantirt und der Niederschlag filtrirt. Dieser wurde dann noch einmal in wenig Alkali gelöst, mit Essigsäure wieder gefällt und mit Alkohol und Aether getrocknet: es resultirte ein grauweissliches, staubendes Pulver.

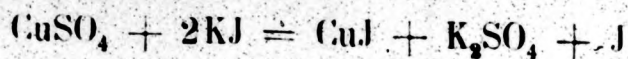
Als Säure habe ich Anfangs verdünnte Salzsäure benutzt und es wurden nun je 10 g Mucin mit 200 cem. 2 ‰iger HCl

1) O. Hammarsten, Ueber das Mucin der Submaxillarisdrüse. Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. XII, S. 163.

2) Dieselbe Erfahrung veröffentlicht Müller. (Zeitschrift für Biologie N. F., Bd. 24.)

am Rückflusskühler 1, 2 und 3 Stunden lang gekocht. Aber schon die Bestimmung der Reduktionskraft der Zersetzungsflüssigkeit machte grosse Schwierigkeiten. Einfache Titration der neutralisirten und filtrirten Flüssigkeit mit Fehling'scher Lösung erwies sich als ungeeignet, denn durch Zusatz der noch Eiweiss und Peptone enthaltenden Lösung zu der Fehling'schen Flüssigkeit entstand zunächst äusserst intensive Violettfärbung, die bei weiterem Zusatz ohne deutlichen Umschlag in Braungrün überging, ein Verhalten, das sich nicht änderte, als ich die Reactionsflüssigkeit mit Thierkohle entfärbt hatte, so dass sie nun hellbernsteingelb aussah.

Eine Bestimmung nach Allihn auszuführen, trug ich bei meinen ersten Versuchen Bedenken, da bei dem nicht unbeträchtlichen Gehalt an Ammoniak sehr viel Kupferoxydul in Lösung bleiben musste und ein Versuch, nach v. Babo¹⁾ und Meissner das überschüssig zugesetzte Kupferoxyd mittels Jodkalilösung in Kupferjodid und freies Jod zu verwandeln:



und dann dieses mit Hilfe von Zinnchlorürlösung zu bestimmen, gab zwar an reinen Zuckerlösungen ganz gute Resultate, liess aber ebenfalls bei der zersetzten Mucinlösung im Stich. So bin ich denn zum Schluss wieder zur Bestimmung nach Allihn zurückgekehrt, um überhaupt einen Anhaltspunkt für das mehr oder minder grosse Reduktionsvermögen zu haben: die Anwendung der Quecksilbermethoden, die zuerst sehr verlockend erschien, erwies sich aus verschiedenen Gründen ebenfalls als nicht geeignet.

Es wurden so gefunden für die Lösung, die eine Stunde gekocht hatte:

$$10 \text{ ccm.} = 0.0983 \text{ g Cu} = 0.0503 \text{ g Traubenzucker.}$$

Es waren also im Ganzen aus den 10 g Mucin 1,006 g reducirende Substanz, auf Traubenzucker berechnet, abgespalten worden = 10,06 %.

¹⁾ v. Babo und Meissner. Ueber das Verhalten der Harnsäure zu der Fehling'schen Lösung. Zeitschrift für rationelle Medicin, 3. Reihe, 2. Band, 1858, S. 321.

Für die Lösung, die 2 Stunden lang gekocht hatte, wurde gefunden:

10 ccm. = 0,1298 g Cu = 0,0665 g Traubenzucker.

Es waren also aus 10 g Mucin 1,33 g reducirende Substanz, auf Traubenzucker berechnet, abgespalten worden = 13,30 %.

Für die Lösung, die 3 Stunden lang gekocht hatte, wurde gefunden:

10 ccm. = 0,1054 g Cu = 0,0539 g Traubenzucker.

Hier waren also aus 10 g Mucin 1,078 g reducirende Substanz gebildet = 10,78 %.

Die Zahlen sind, wenn man bedenkt, dass die Methode nicht genau arbeitet, nicht sehr verschieden, sie geben sicher nicht die wirkliche Menge reducirender Substanz an, ich betone es noch einmal ausdrücklich, sind aber doch geeignet, ein annäherndes Bild von der Menge reducirender Substanz in der zersetzten Mucinlösung zu geben.

Die Lösungen wurden vereinigt und auf schwach warmem Wasserbade soweit eingeengt, dass ihr Gehalt an reducirender Substanz etwa 2--3 % betrug.

Nun werden 50 ccm. abgemessen, alkalisch gemacht und in bekannter Weise mit Phenylcyanat behandelt. Aber es war mir auf keine Weise möglich, hier den charakteristischen Niederschlag zu bekommen.

Setzte ich jedoch zu der noch übrig gebliebenen Flüssigkeit Glukosaminchlorhydrat 0,5 g = 0,425 g freies Glukosamin hinzu, so war es ein Leichtes, hier dasselbe mit Hilfe von Phenylcyanat in Form seines gallertigen Additionsproduktes zu isoliren und in das Anhydrid umzuwandeln.

Diese Verhältnisse forderten energisch zu weiterer Prüfung auf, aber die Beschaffung des nöthigen Materials war eine äusserst mühsame und zeitraubende. In sehr willkommener Weise wurde ich aber vom hiesigen pathologischen Institute unterstützt, das mir durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Geheimrath Arnold, dem ich an dieser Stelle meinen besten Dank ausdrücke, den Inhalt eines grossen Ovarialcystoms zu kommen liess.

Die Masse erwies sich bei näherer Untersuchung als fast reines Paramucin, das von Katharina Mitjukoff¹⁾ unter Drechsel's Leitung untersucht und zuerst als besonderer Körper aufgestellt worden war. Ausser von Leathes²⁾ und von Panzer³⁾ ist die Substanz nicht wieder beschrieben und untersucht worden.

Der Inhalt der Cyste bestand aus einer hellgelben, zitternden, nicht fadenziehenden Gallerte, die theils ganz durchsichtig, theils weisslich-trübe war und theils mit bluthaltenden Gefässen durchzogen war. Die letzteren Stellen wurden abgetrennt und für sich besonders verarbeitet: die daraus gewonnene Substanz diente später zu Vorversuchen. Dann wurde die Gallerte durch ein grobmaschiges Tuch gepresst, mit dem mehrfachen Volumen Wasser verdünnt, hierin fein vertheilt und nach der von K. Mitjukoff angegebenen Methode weiter behandelt.

Die Flüssigkeit wurde mit verdünnter Salzsäure so lange versetzt, bis sie deutlich saure Reaction zeigte, und stehen gelassen, bis das Paramucin vollkommen geschrumpft war. Dann wurde decantirt und dieselbe Operation noch einige Mal wiederholt. In absoluten salzsauren Alkohol gebracht, erhärtete die Substanz nun allmählich zu einem weisslichen Pulver, das, mit Aether getrocknet, keine hygroskopischen Eigenschaften zeigte, sondern sich gut als feines, staubendes Pulver aufbewahren liess. Es wurden so etwa 350 g Paramucin erhalten.

Während die ersten Waschwasser noch Fehling'sche Lösung reducirten, war dies bei den letzten nicht mehr der Fall, selbst wenn sie auf dem Wasserbade bis auf ein Weniges eingeengt worden waren.

Der Körper zeigte alle von Mitjukoff angegebenen Eigenschaften, er war in Wasser, selbst beim Sieden, in Alkohol und Aether unlöslich, quoll aber in Wasser auf Zusatz einer

1) Katharina Mitjukoff. Ueber das Paramucin. Archiv für Gynäkologie. Bd. 49. Heft 2.

2) Leathes, Beiträge zur Chemie der Ovarialmucoide. Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie. Bd. 43. S. 245.

3) Th. Panzer. Ueber das Eierstockcolloid. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXVIII. S. 263.

kleinen Menge Kali- oder Natronlauge so stark auf, dass eine feste Gallerte entstand, die grosse Aehnlichkeit mit dem ursprünglichen Cysteninhalte hatte.

Bei weiterem Zusatz von Natronlauge löste sich Alles auf und auch die jetzt entstandene Lösung stimmte in ihrem Verhalten vollkommen mit den Angaben Mitjukoff's überein.

Das im vorliegenden Falle Interessirende war das Reductionsvermögen sowohl der ursprünglichen Substanz, wie der Lösung in Alkali.

Es wurde 1 g Paramucin in concentrirter Salzsäure gelöst, auf 100 ccm. aufgefüllt und je 25 ccm. nach Allihn bestimmt.

Es wurden gefunden:

1. $0,0577 \text{ g Cu} = 0,0295 \text{ g reducirende Substanz}$, auf Traubenzucker berechnet = $11,8\%$.
2. $0,0593 \text{ g Cu} = 0,0303 \text{ g reducirende Substanz} = 12,12\%$.

Die Zahlen stimmen annähernd mit den von Mitjukoff gefundenen überein, im Mittel $12,45\%$.

Die Lösung in Alkali, ebenso bereitet, gab wesentlich niedrigere Zahlen (1 g Paramucin zu 100 ccm. gelöst):

In 500 ccm. wurden gefunden:

1. $0,0622 \text{ g Cu} = 0,0318 \text{ g reducirende Substanz} = 6,36\%$.
2. $0,0683 \text{ g Cu} = 0,0349 \text{ g reducirende Substanz} = 6,98\%$.

Mitjukoff hatte im Durchschnitt $7,5\%$ reducirende Substanz gefunden. Für die vorliegende Frage kamen die alkalischen Lösungen natürlich nicht in Betracht, (siehe die Einwände, die Seemann¹⁾ gegen die Methode Spenser's²⁾ gemacht hat), und ich ging gleich dazu über, die Substanz mit verdünnter siedender Salzsäure zu zersetzen.

Je 10 g Paramucin wurden mit 200 ccm. 3%iger Salzsäure 1, 2 und 3 Stunden lang am Rückflusskühler gekocht. Das Reductionsvermögen der neutralisirten und filtrirten Lösung betrug bei 1. $9,50\%$, bei 2. $10,03\%$ und bei 3. $9,87\%$, auf Traubenzucker und Paramucin berechnet.

1) Seemann, J., Ueber die reducirenden Substanzen, die sich aus Hühnereiweiss abspalten lassen. Marburger Dissertation 1898.

2) J. Spenser. Ueber die Darstellung eines Kohlehydrates aus Eieralbumin. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. XXIV. S. 354.

In der Folge habe ich also, da sich kein nennenswerther Einfluss der Dauer des Kochens auf die Menge der reducirenden Substanz feststellen liess, die Substanz 1—2 Stunden lang kochen lassen, dann wurde mit Natronlauge neutralisirt, filtrirt und bei mässiger Temperatur soweit eingeeengt, dass der Gehalt der Flüssigkeit an reducirender Substanz etwa 2—3% betrug. Nun wurde mit Natronlauge alkalisch gemacht, stark gekühlt und mit Phenylecyanat ein Niederschlag zu erhalten versucht. Aber auch hier ist es mir nicht gelungen, das Glukosamin in Form seines charakteristischen Niederschlages abzuscheiden. Kontrollversuche mit hinzugefügtem Glukosaminchlorhydrat gelangen ohne Weiteres.

Man konnte ja immerhin an die Möglichkeit denken, dass in der Zersetzungsflüssigkeit überhaupt kein Glukosaminchlorhydrat vorhanden sei, sondern ein anderes Amidderivat eines Zuckers, der möglicher Weise nicht mit Phenylecyanat reagirt hätte. Zu dem Ende habe ich also die Zersetzungsprodukte eines Körpers untersucht, in dem zweifellos Glukosamin festgestellt worden war, und zwar wählte ich das von Seemann¹⁾ untersuchte Ovomucoïd.

Das Weisse von 30 Eiern wurde colirt, mit Essigsäure schwach angesäuert und aufgeköcht. Die eiweissfreien Filtrate wurden eingeeengt und unter Umrühren in starken Alkohol gegossen. Der weisse pulverige Niederschlag wurde abfiltrirt, in warmem Wasser gelöst und wieder mit Alkohol gefällt, die Operation noch einige Male wiederholt, um sämtlichen Traubenzucker fortzuschaffen, und zum Schluss das resultirende Ovomucoïd mit Aether getrocknet. Davon wurden 7 g mit 100 ccm. 3%iger HCl 1 Stunde gekocht. Sie mussten nun, unter Zugrundelegung der Seemann'schen¹⁾ Zahlen (rund 30%), etwa 2 g reducirende Substanz enthalten.

Die Flüssigkeit wurde neutralisirt, filtrirt, wieder auf 100 ccm. gebracht und in zwei Theile getheilt.

Die ersten 50 ccm. wurden nach der Phenylecyanatmethode auf Glukosamin untersucht, ohne Erfolg.

Zu den zweiten 50 ccm. setzte ich 0,5 g Glukosamin-

¹⁾ Vgl. Anm. 1. auf S. 427.

chlorhydrat hinzu: Hier liess sich dasselbe mit meiner Phenylcyanatmethode leicht isoliren.

Die Versuche sagen ohne Weiteres, dass durch Sieden mit verdünnten Säuren sowohl aus Paramucin, wie Ovomuroid und Submaxillarismucin kein Glukosamin als solches gebildet wird; mittels meiner Methode hätte ich es zweifellos auffinden müssen. Das Glukosamin kann also nicht als Paarling des Eiweisses betrachtet werden, hier müssen complicirter zusammengesetzte Körper in Frage kommen, die möglicher Weise die von Schmiedeberg und Leathes vermuthete Zusammensetzung haben. Der Ausfall meiner Versuche erlaubt uns, sogar noch einen Schritt weiter zu gehen: wir dürfen annehmen, dass der reducirende Körper keine freie NH_2 -Gruppe besitzt, da sonst wohl sicher eine Kuppelung mit Phenylisocyanat stattgefunden hätte.

Eine andere Frage erhob sich nun gleichfalls, nämlich, ob der reducirende Körper des Paramucins wirklich Glukosamin in seinem Molekül enthielt, und ich habe mich zunächst an die Lösung dieser Aufgabe gemacht.

Es war für mich dabei von Interesse, einmal den reducirenden Körper in möglichster Reinheit darzustellen, da alle anderen Untersucher immer noch stark mit Eiweiss verunreinigte Präparate in Händen gehabt hatten, die keine genauere Untersuchung zuliessen, Schmiedeberg ausgenommen: aber dessen Methode leidet an grosser Umständlichkeit, ist nur bei sehr grossem Ausgangsmaterial möglich und erfordert sehr viel Geduld und Zeit.

Die alte Landwehr'sche Eisenmethode, deren sich Müller und Seemann bedienten, schafft nicht sämtliche Eiweisskörper aus der Zersetzungsflüssigkeit heraus, und den Rest mit Gerbsäure fällen, wie Müller und Seemann Anfangs gethan, ist recht gefährlich, da die Gerbsäure selber schon stark Fehling'sche Lösung reducirt. Fällung der Eiweisskörper mit Alkohol erwies sich ebenfalls als unvortheilhaft, da auch die reducirende Substanz mit niedergeschlagen wurde.

Ich habe also die Eiweisskörper mit Phosphorwolframsäure ausgefällt, die Phosphorwolframsäure wieder mit Baryt fortgeschafft, das Filtrat gab keine Spur von Biuretreaction mehr und reducirte noch. In den ersten Versuchen, die ich

anstellte, hatte ich noch mit Salzsäure gespalten, ich versuchte daher, dieselbe aus dem Filtrate mit Silberoxyd zu entfernen, aber es waren dazu grosse Mengen erforderlich (ich hatte die Zersetzungsflüssigkeit vor der Fällung mit Salzsäure stark sauer gemacht) und der geringste Ueberschuss von Silberoxyd liess einen schönen, glänzenden Silberspiegel entstehen.

In der Folge habe ich dann das Paramucin mit verdünnter 3%iger Schwefelsäure gespalten. Nachdem die Flüssigkeit, 10 g Paramucin + 200 ccm. 3%ige Schwefelsäure, 1—2 Stunden am Rückflusskühler gekocht hatte, wurde sie abgekühlt, auf einen Gehalt von 5% Schwefelsäure gebracht und mit Phosphorwolframsäure gefällt. Die voluminöse Fällung wurde abgesaugt und mit heissem H_2SO_4 haltigen Wasser ausgewaschen. In diese Fällung geht eine geringe Menge reducirender Substanz hinein, von der ich es unentschieden lassen muss, ob sie wirklich gefällt oder nur mechanisch mitgerissen wurde.

Das Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag wurde mit heisser concentrirter Barytlösung versetzt bis zur annähernd neutralen Reaction, der Rest der Säuren wurde mit Baryumcarbonat entfernt. Nun resultirte eine wasserklare Flüssigkeit, die vollkommen biuretfrei war, keine Millon'sche Reaction gab und in der sich das Reductionsvermögen leicht mit Fehling'scher Lösung in gewöhnlicher Weise titriren liess.

10 ccm. Fehling'scher Lösung erfordern 15,5 ccm., folglich enthält das wieder auf 200 ccm. aufgefüllte Filtrat 0,65 g an reducirender Substanz, auf Glukose berechnet.

In zahlreichen Bestimmungen habe ich annähernd dieselbe Zahl gefunden, die sich allerdings nicht gut mit der Reductions-kraft der ursprünglichen Zersetzungsflüssigkeit vergleichen lässt, da diese nach Allihn in Versuchen für sich bestimmt worden war.

10 g Paramucin + 200 ccm. 3%ige H_2SO_4 2 Stunden lang gekocht, neutralisirt, filtrirt. Das Filtrat wieder auf 200 ccm. gebracht.

50 ccm. = 0,0523 g Cu = 0,0267 Z. Es waren also in den 200 ccm. 0,934 g auf Glukose berechnete reducirende Substanz enthalten.

Die Phosphorwolframsäurefällung hat also einen Verlust von 0,28 g reducirender Substanz, auf Glukose bezogen, zur Folge gehabt, ich habe aber trotzdem mit dieser Methode weiter gearbeitet, da ich rasch und zuverlässig zu eiweissfreien Filtraten kam.

Die Filtrate zeigten keine Circumpolarisation und gährten mit Bierhefe nicht.

Auch in den eiweissfreien Filtraten liess sich mit Phenylcyanat der reducirende Körper nicht ausfällen. Es wurde deshalb nach und nach eine etwa 5 g Traubenzucker entsprechende Menge des reducirenden Körpers gesammelt, bei mässiger Temperatur eingedunstet, zuletzt über Schwefelsäure getrocknet und nun mit 20 ccm. concentrirter Salzsäure 3 Stunden lang im zugeschmolzenen Rohr auf 110° erhitzt.

Beim Oeffnen der Röhre zeigte sich nur wenig Druck, es hatte sich massenhaft Kohle abgeschieden, von der abfiltrirt wurde, und die Reduktionskraft der Lösung war erheblich zurückgegangen. Sie wurde bestimmt, nachdem die Salzsäure durch wiederholtes Abdampfen auf dem Wasserbade bis zur Trockne verjagt worden, die dunkelbraune Lösung durch Thierkohle entfärbt war.

10 ccm. Fehling'scher Lösung erforderten 9,5 ccm., folglich waren im Ganzen, es waren 150 ccm., 0,789 g auf Glukose berechnete reducirende Substanz zurückgeblieben.

Diese wurden auf 50 ccm. eingeeengt und nach der Phenylcyanatmethode behandelt. Jetzt gelang es, aus der Flüssigkeit einen gallertigen Niederschlag zu bekommen, der, mit Essigsäure erhitzt, sich in ein schweres Krystallpulver verwandelte, das nach mehrmaligem Umkrystallisiren aus heissem Alkohol den verlangten Schmelzpunkt, 210° uncorrectirt, zeigte.

Das Glukosamin ist also im Paramucin am Aufbau des reducirenden Körpers betheilig, ebenso wie im Pseudomucin, und die Bedenken Leathes', der kein auf den Schmelzpunkt des Glykosazons stimmendes Osazon erhalten konnte, fallen nunmehr fort.

Die andere Componente, die den Rest des reducirenden Complexes bildet, erwies sich bei meinen weiteren Untersuchungen als sehr schwer zugänglich.

Bei der Darstellung von Osazon habe ich nur Gemenge erhalten, deren Trennung nicht mit absoluter Sicherheit zu erreichen war, und eine Elementaranalyse des reducirenden Körpers, den ich zum Schluss wohl als ein feines, weisses Pulver gewinnen konnte, scheint mir nicht eher gestattet zu sein, bis er in eine analysenreine, d. h. krystallinische Substanz übergeführt werden kann. Ein Theil der reducirenden Substanz fällt mit Bleiessig, die bei Weitem grössere Menge aber erst bei Zusatz von Ammoniak, nach Entfernung des Bleies mit Schwefelwasserstoff kann man sie mit Alkohol niederschlagen, aber ein Kriterium der Reinheit und Einheitlichkeit besitzt der ausfallende Körper leider nicht und zur Ausarbeitung einer neuen Methode reichte mein Material nicht mehr.

Fassen wir zum Schluss noch einmal die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zusammen, so erhalten wir folgende Schlusssätze:

Das Glukosamin verbindet sich in alkalischer Lösung mit Phenylisocyanat zu einem schwerlöslichen Additionsprodukt, das noch reducirende Eigenschaften besitzt.

Dieses Produkt geht bei längerem Erwärmen mit Essigsäure in sein Anhydrid über, das die Constitution eines α -Tetraoxybutyl- ν -phenyl- μ -hydroxy-imidazols hat und durch seinen Schmelzpunkt leicht erkennbar ist.

Da die Additionsprodukte des Phenylisocyanats mit Amidosäuren erst in saurer Lösung ausfallen, so ist eine Trennung des Glukosamins von den Amidosäuren durch die neue Methode möglich.

Aus dem Gemisch der Zersetzungsprodukte eines Eiweisskörpers durch Säurespaltung lässt sich hinzugesetztes Glukosamin durch die Phenylcyanatmethode bequem isoliren.

Der durch Sieden mit verdünnten Säuren aus Submaxillarismucin und aus Paramucin leicht abspaltbare reducirende Körper ist kein einfaches Glukosamin und hat keine zur Kuppelung mit Phenylcyanat geeignete NH_2 -Gruppe.

Durch Erhitzen mit concentrirter Salzsäure lässt sich aus dem reducirenden Körper des Paramucins Glukosamin abspalten und mit Hilfe der Phenylcyanatmethode nachweisen.