

# Ueber Vorkommen und Nachweis von Fructzucker in den menschlichen Körpersäften.

Von

C. Neuberg und H. Strauss.

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts der Universität und der III. medicinischen Klinik zu Berlin.)

Der Redaction zugegangen am 18. Juli 1902.

Während die Fructose schon seit dem Jahre 1832 als Product des Pflanzenreichs bekannt ist, steht ihr Vorkommen im Thierkörper bezw. in den menschlichen Gewebssäften nicht mit einem gleichen Grade von Sicherheit fest. Das ist ohne Weiteres begreiflich, wenn man bedenkt, dass die Lävulose einen normalen Bestandtheil zahlreicher Pflanzenstoffe — frei oder als Saccharid — bildet und dass sie in diesen meist in solchen Mengen vorkommt, dass ihr Nachweis keine Schwierigkeiten bereitet. Im Gegensatz hierzu ist — wenn man von der Anwesenheit der Lävulose im Honig absieht — das Auftreten grösserer Mengen dieses Zuckers unter den Producten des thierischen Stoffwechsels allem Anschein nach eine pathologische, zum mindesten eine seltene Erscheinung.

Die Erkennung der Fructose ist gerade hier, wo es sich stets nur um kleine Mengen handelt, mit einigen Schwierigkeiten verknüpft, besonders wenn es sich — wie das meist in den Flüssigkeiten des thierischen Körpers der Fall ist — um ein Gemisch von verschiedenen Substanzen aus der Kohlenhydratreihe handelt.

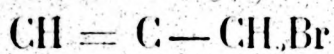
Früher war man der Meinung, in der sogenannten Selivanoff'schen Reaction<sup>1)</sup> (Bildung eines rothen, alkohol-

<sup>1)</sup> Selivanoff, Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 29, S. 181.

löslichen Farbstoffes beim Kochen mit Resorcin und Salzsäure) eine für die natürlich vorkommenden Ketosen der 6-Kohlhydratreihe (Fructose und Sorbinose) charakteristische Probe zu haben. Bald zeigte sich jedoch, dass ein gleiches Verhalten auch den Polysacchariden zukommt, die bei der Hydrolyse Fructose liefern, wie Rohrzucker, Raffinose und Inulin sowie den selteneren Zuckern Stachyose, Sekalose und Lapeose.

Später fanden C. A. Lobry de Bruyn und Alberda van Ekenstein,<sup>1)</sup> dass die synthetisch erhaltenen Hexosen der 6-Kohlenstoffreihe wie Tagatose, Galtose, Pseudofructose gleichfalls die Seliwanoff'sche Probe geben, und der Eine von uns (Neuberg)<sup>2)</sup> zeigte, dass sie den Ketozuckern aller Reihen zukommt. Denn Arabinoketose, Ketotetrose und Dioxyaceton liefern den gleichen oder zum mindesten einen in der Nuance von denjenigen der positiv ausgefallenen Seliwanoff'schen Reaction nicht zu unterscheidenden Farbstoff; ebenso verhalten sich die d-Oxygluconsäure, die eine Keto-säure ( $\text{CH}_2 \cdot \text{OH} - \text{CO} - (\text{CH} \cdot \text{OH})_3 - \text{COOH}$ ) ist<sup>3)</sup> und manche Arten von Cellulose (Filtrirpapier).<sup>4)</sup>

Von einer ähnlichen Vieldeutigkeit erwies sich auch die neue Ketosenreaction von Fenton und Gostling,<sup>5)</sup> die auf der



Bildung von Brommethylfurfurol  $\begin{matrix} & & \text{O} & & \\ & & \diagdown & & \diagup \\ \text{CH} = \text{C} - \text{COH} & & & & \end{matrix}$  beruht.

Dasselbe bildet sich bei der Einwirkung von ätherischer Bromwasserstoffsäure auf die Kohlehydrate und zeigt in Lösung prächtige Purpurfärbung. Dieses Furfuroiderivat, das aus

1) Lobry de Bruyn und A. van Ekenstein, Ber. des trav. chim. des Pays-Bas, Bd. 16, S. 262.

2) C. Neuberg, Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 564 (1900).

3) C. Neuberg, Zeitschr. d. Vereins d. deutsch. Zuckerindustrie, Bd. 51, S. 271 (1901).

4) C. Neuberg, Zeitschr. d. Vereins d. deutsch. Zuckerindustrie, Bd. 52, S. 238 (1902).

5) H. J. Fenton und M. Gostling, Journ. of the chem. Soc. London, 1899, S. 423 und 1901, S. 351.



Ketohexosen nach der Gleichung  $C_6H_{12}O_6 + HBr = 4 H_2O + C_6H_5O_2Br$  entsteht, ist auch aus Aldopentosen (Xylose) und Cellulose erhältlich und demnach nicht für Lävulose charakteristisch.

Auch die wichtigste aller Zuckerreactionen, die Osazonprobe, versagt als specielle Reaction auf den Fruchtzucker, denn das Fructosazon ist bekanntlich identisch mit dem Osazon der d-Glucose, der d-Mannose und dem des Chitosamins.

Das Gährungsvermögen und die Linksdrehung des Fruchtzuckers sind zu wenig charakteristische Eigenschaften, um zu einer sicheren Identificirung desselben dienen zu können, zumal nicht bei so zusammengesetzten Flüssigkeiten wie Harn und Blut, die erwiesenermaassen gleichzeitig reducirende linksdrehende Substanzen, so z. B. gepaarte Glucuronsäuren<sup>1)</sup> und gährungsfähigen Traubenzucker enthalten können.

Auch die Abscheidung der Lävulose als Calciumverbindung, die nach A. Herzfeld<sup>2)</sup> und Herzfeld und Winter leicht im grossen gelingt, ist nicht ausführbar, wenn man es mit kleinen Mengen des Zuckers zu thun hat; ausserdem ist das Calciumfructosat ein empfindlicher und leicht veränderlicher Körper.

In richtiger Würdigung dieser Schwierigkeiten, mit denen der Nachweis der Fructose ersichtlich verknüpft ist, haben deshalb schon E. von Lippmann<sup>3)</sup> (1895) und H. Hüppert<sup>4)</sup> (1898) Bedenken an der Zuverlässigkeit der älteren Angaben über das Vorkommen von Lävulose in den Gewebssäften geäussert. Dieselben sind nach den erwähnten neueren Erfahrungen über die Ketosenreactionen nicht nur nicht beseitigt, sondern im Gegentheil sogar noch erhöht worden und es halten unter den bis jetzt beschriebenen Fällen nur wenige einer scharfen Kritik stand. In der letzten Zeit ist das Vor-

1) P. Mayer und C. Neuberg, Diese Zeitschrift, Bd. XXIX, S. 256 (1900); P. Mayer, ebendas., Bd. XXXII, S. 518.

2) A. Herzfeld, Zeitschr. d. Vereins d. deutsch. Zuckerindustrie, III, 34, S. 433 u. Bd. 36, S. 108.

3) E. v. Lippmann, Chemie d. Zuckerarten (1895), S. 429.

4) Neubauer und Vogel, Analyse des Harns (1898), S. 125.

kommen der Lävulose im Blut und den Gewebssäften besonders von R. Lépine,<sup>1)</sup> zum Theil in Gemeinschaft mit Bouland und von einem von uns,<sup>2)</sup> Rosin<sup>3)</sup> u. A. untersucht worden. Da Pickardt und der Eine von uns (St.) über grössere Untersuchungsreihen verfügen, so wollen wir bezüglich dieser mittheilen, dass Pickardt unter 20 serösen Ergüssen 9 mal Reduction, Linksdrehung und positiven Ausfall der Seliwanoff'schen Reaction neben einander fand. Der eine von uns (St.) hat bei der Untersuchung von 20 Blutsersis und 10 Oedem- bzw. Ascitesflüssigkeiten, die von Nephritikern stammten, bei demjenigen Material, das von Schrumpfniere stammte, bei  $\frac{1}{5}$  des von Schrumpfnierenkranken gewonnenen Materials die Seliwanoff'sche Reaction positiv gefunden. In den anderen Fällen dagegen, in welchen Retentionen nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden konnten, war nur selten ein positiver Ausfall dieser Reaction festzustellen. Fernerhin konnte er in der Ascitesflüssigkeit zweier Fälle von Lebercirrhose nach der Enteiweissung Reduction, Linksdrehung, Gährung und positiven Ausfall der Seliwanoff'schen Reaction mit Sicherheit neben einander nachweisen. J. Baer<sup>4)</sup> hat es aber dann wahrscheinlich gemacht, dass in manchen Fällen ein Vorkommen von Lävulose im Blut und in den Gewebssäften erst durch chemische Manipulationen extra corpus entstanden ist; denn die Untersuchungen von C. A. Lobry de Bruyn und Alberda van Ekenstein<sup>5)</sup> über die Verwandlung der Zuckerarten in einander haben gelehrt, dass Fructose durch sehr geringfügige Mengen von verdünnten Alkalien, Hydroxyden und unter der Wirkung von Hydroxylionen allgemein aus Traubenzucker (und Mannose) ge-

1) Compt. rend. de l'Académie. 133, 138 (1901); 134, 398 (1902); Semaine médicale 1901; Revue de Médecine, 21, 632 (1901); Lyon médical 33, 645 (1901).

2) H. Strauss, Die chron. Nierentzündungen in ihrer Einwirkung auf die Blutflüssigkeit etc. Berlin. A. Hirschwald, 1902.

3) H. Rosin, Centralbl. f. die medicin. Wissenschaft, 1902.

4) J. Baer, Strassburger Dissertation, 1899 (C. u. J. Goeller).

5) Lobry de Bruyn und Alberda van Ekenstein, Recue des trav. chimiques des Pays-Bas, Bd. 14, S. 156 u. 203.





und durch physikalische Constanten (Schmelzpunkt und optisches Verhalten) charakterisirt.<sup>1)</sup>

Die Ueberführung der Fructose in ihr Methylphenylosazon gelingt nur auch mit Leichtigkeit in verunreinigten Lösungen und bei Gegenwart anderer Zucker, die unter Umständen sich gleichzeitig isoliren lassen.<sup>2)</sup>

Im Folgenden sei kurz die Methode beschrieben, wie wir sie für den vorliegenden Zweck ausgearbeitet und bewährt gefunden haben. Harn, Blutserum, - Ascites- oder Oedem-Flüssigkeit wird sofort nach Verlassen des Körpers unter Umrühren mit einigen Tropfen Essigsäure bis zur deutlich sauren Reaction versetzt und aufgekocht. Dabei coagulirt die Hauptmenge von etwa vorhandenem Eiweiss aus, das abfiltrirt wird. Das klare Filtrat, das noch deutlich sauer reagiren muss, wird dann im Vacuum bei einer 40° nicht übersteigenden Temperatur bis zum dünnen Syrup eingeeengt; durch Zusatz einiger Stückchen Lakmuspapier überzeugt man sich, dass die Reaction während der ganzen Dauer des Eindampfens schwach sauer bleibt. Der dünnflüssige Verdampfungsrückstand wird dann unbekümmert um feste Ausscheidungen, die aus Salzen oder Albumin bestehen, mit halb soviel Alkohol von 98° auf dem Wasserbade ausgekocht, wie das ursprüngliche Flüssigkeitsquantum betrug.

In etwa 5 Minuten wird dabei die Hauptmenge der vorhandenen Fructose ausgezogen: die erkaltete Lösung wird filtrirt. Zeigen die zurückbleibenden Salze, in wenig Wasser gelöst, noch ein erhebliches Reductionsvermögen, so wird die Gesamtmenge des Rückstandes mit wenig Wasser durch-

<sup>1)</sup> Die nur synthetisch erhaltenen Ketoaldehyde der Zucker, die Osone Emil Fischer's, von der allgemeinen Formel  $\text{CH}_2 \cdot \text{OH} - \text{CH}(\text{OH})_n - \text{CO} - \text{COH}$ , reagiren gleichfalls mit Methylphenylhydrazin; das hat für Glucoson schon E. Fischer (Ber. 22, 91 [1889]) festgestellt. Auch l-Arabinoson liefert hiermit — worauf mich Herr M. M. Richter-Karlsruhe gütigst aufmerksam gemacht hat — nach Morrell und Crofts (Journ. of Chem. Soc. 75, 791) — eine Verbindung, die der optische Antipode des später von mir beschriebenen d-Arabinoketosemethylphenylosazons sein muss. C. Neuberg.

<sup>2)</sup> C. Neuberg d. c.).



feuchtet und nochmals mit der gleichen Menge Alkohol extrahirt.

Die vereinigten alkoholischen Auszüge werden, wenn nöthig, von einigen flockigen Ausscheidungen abfiltrirt und mit Knochenkohle entfärbt; in einer Probe ermittelt man dann durch Titration den Gehalt an reducirender Substanz. Dieselbe wird als Lävulose betrachtet und die darauf berechnete Menge Methylphenylhydrazin (3 Mol. für 1 Mol. Zucker) zu der auf ein kleines Volumen (ca. 30 cem) verdampften alkoholischen Zuckerlösung gegeben. Man lässt dann einige Stunden in der Kälte stehen und filtrirt, falls sich ein Niederschlag gebildet hat. In letztem Falle wird nun das Filtrat oder sonst die ursprüngliche Lösung mit der dem angewandten Methylphenylhydrazin gleichen Gewichtsmenge 50% iger Essigsäure versetzt, und eventuell noch so viel Alkohol zugegeben, dass eine klare Lösung resultirt. Diese wird 3 bis 5 Minuten auf dem siedenden Wasserbad oder sicherer 24 Stunden im Brutschrank auf 40° erwärmt. Sind grössere Mengen Fruchtzucker zugegen, so scheidet sich das Methylphenylosazon direct krystallinisch, eventuell nach Zusatz einiger Tropfen Wasser, ab.

— Bei geringeren Mengen erhält man das Osazon auf Wasserzusatz zunächst als Oel, das bei öfterem Reiben, eventuell nach Impfung, fest wird.

Am schnellsten kommt man aber immer durch starke Abkühlung zum Ziel. Die besten Dienste leistet ein Gemisch von fester Kohlensäure und Aether, das folgendermaassen angewandt wird.

Das freiwillig oder durch Wasserzusatz ausgeschiedene ölige Methylphenylosazon wird durch Abgiessen von der Mutterlauge getrennt und nochmals durch Decantiren mit kaltem Wasser gewaschen und schliesslich im Vacuum über concentrirter Schwefelsäure völlig getrocknet. Das resultirende Harz wird in absolutem Alkohol gelöst, filtrirt und in eine Kältemischung aus Aether und fester Kohlensäure gestellt. Fast momentan beginnt die krystallinische Ausscheidung des Osazons. Wenn nach einigen Minuten seine Menge nicht mehr zunimmt,

wird es abgesaugt und mit im gleichen Kältegemisch gekühltem absoluten Alkohol gewaschen. Dieses Rohproduct wird durch nochmaliges Umkrystallisiren völlig rein erhalten. Am besten wird es in heissem Wasser unter Zusatz von etwas Pyridin gelöst, mit etwas Knochenkohle gekocht und filtrirt: beim Einengen scheidet sich das Osazon in sehr feinen gelblichen Nadeln vom Schmelzpunkt 158—160° ab, während aus Alkohol umkrystallisirte Präparate einen mehr röthlichen Farbenton und gewöhnlich einen etwas niedrigeren Schmelzpunkt (153°) besitzen.

Charakteristisch für das Methylphenyl-Fructosazon ist noch sein schon früher beschriebenes Verhalten zum polarisirten Licht: 0,2 g der Substanz zeigen im Pyridinalkoholgemisch<sup>1)</sup> (4,0 ccm Pyridin + 6,0 ccm absolutem Alkohol) Rechtsdrehung = 1° 40'.

Um ein Urtheil über die Brauchbarkeit unseres Verfahrens zu gewinnen, setzten wir zu 200 ccm Ascitesflüssigkeit, die keine reducirende Substanz enthielt, 2,00 g reine Lävulose und verfahren zu deren Nachweis in der angegebenen Weise. Wir erhielten 2,27 g Osazon.

Da reiner Fruchtzucker unter den günstigsten Bedingungen nur 81°/o an Methylphenylosazon liefert, so entspricht die gefundene Osazonmenge 66°/o der theoretischen: die Methode ist demnach für den vorliegenden Zweck ausreichend.

Mit dem angegebenen Verfahren haben wir im Laufe des vergangenen Wintersemesters eine Anzahl (9 Fälle) von Ex- und Transsudaten sowie ein Blutserum auf Lävulose untersucht. In drei von diesen Fällen waren 1—2 Stunden vor Entnahme der betreffenden Körperflüssigkeit 100 g Fruchtzucker per os gereicht worden. Die betreffenden Fälle sind aus einer grösseren Reihe ausgewählt: die genauere Untersuchung wurde erst vorgenommen, wenn ein deutlich positiver Ausfall der Seliwanoff'schen Reaction vorhanden war. Da wir nur in

1) C. Neuberg, Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 32, S. 3384 (1899).



5 Fällen Fructose isoliren konnten, so muss in den Fällen mit negativem Ergebniss die Menge des vorhandenen Fruchtzuckers entweder sehr gering gewesen sein oder es darf der Eintritt der Rothfärbung bei der Resorcinprobe in Anbetracht ihrer Viedeutigkeit nicht auf Lävulose bezogen werden.

Die untersuchten Flüssigkeiten waren im einzelnen folgende:

### I. Fälle mit positivem Versuchsergebniss.

#### A. Blutserum:

1. Dasselbe stammte von einem an syphilitischer Lebercirrhose leidenden Patienten Th. Das Blut (160 ccm) war durch Venenpunction gewonnen und zwar 13 1/4 Stunden nach der Verabreichung von 100 g Lävulose per os. Der Urin zeigte um diese Zeit eine Spur von Lävulose (Seliwanoff + Gährung — Linksdrehung 0,2%). Isolirt wurden 0,21 g Methylphenylsazon.

#### B. Exsudate:

2. Ascitesflüssigkeit, 2430 ccm, von H. Der betreffende Patient litt an einem Carcinoma planum ventriculi, das massenhafte Metastasen in das Peritoneum gemacht hatte und so zu einer diffusen carcinomatösen Peritonitis Veranlassung gegeben hatte. (Gesamt-N = 0,742 g in 100 ccm Ascitesflüssigkeit.) Der Fall hatte ein besonderes Interesse dadurch, dass bei dem Patienten seit einem Jahre eine Dextrosurie und eine — allerdings nur geringe — Polyurie bestand. Die Section deckte keine makroskopischen Veränderungen am Pancreas auf. In diesem Falle war 2 Stunden vor der Punction des Ascites 100 g Lävulose per os gereicht worden. Isolirt sind 1,8 g Methylphenylsazon.

3. Ascitesflüssigkeit, 1105 ccm, von R. Der betreffende Patient litt an Arthritis urica, Schrumpfniere, Herzmuskelinsufficienz und beginnender Cirrhose cardiaque. Der ursprünglich transsudative Process in der Abdominalhöhle war zur Zeit der Vornahme des Versuchs schon mit einer chro-

nischen Peritonitis complicirt. (Gesamt-N = 0.398 g in 100 cem, Trübung der Flüssigkeit.) 2 Stunden vor der Punction des Ascites war 100 g Lävulose per os gereicht worden. Erhalten wurden ca. 2,0 g Osazon.

4. Pleuraflüssigkeit, 1470 cem, von J. Dieselbe zeigte deutlich die Charaktere des entzündlichen Ergusses (Gesamt-N = 0.722 g in 100 cem, leichte Trübung) und stammte von einem an multiplen Lymphomen leidenden Patienten, der Metastasen in der Pleurahöhle zeigte. In diesem Falle war keine Lävulose gereicht worden. Isolirt sind 1.35 g Methylphenylosazon.

5. Pleuraflüssigkeit, 1200 cem, von demselben Patienten, 8 Tage später. (Gesamt-N 0.770 g in 100 cem.) Keine vorherige Lävulosedarreichung. Dargestellt wurden 0.83 g Methylphenylosazon.

## II. Falle mit negativem Versuchsergebniss.

Sämmtliche Versuchsflüssigkeiten stammten von dem sub I. B.3 näher beschriebenen Patienten. Dreimal war Ascitesflüssigkeit und einmal Oedemflüssigkeit Gegenstand der Untersuchung. Lävulose war in keinem dieser Fälle vorher gereicht worden.

Wenn wir diese Resultate überblicken, so ergibt sich aus ihnen mit Sicherheit, dass sich sowohl im menschlichen Blutserum als auch in anderen menschlichen Gewebsflüssigkeiten, wenn auch nicht stets, so doch in gewissen Fällen, Lävulose einwandfrei nachweisen lässt, und zwar gleichgültig, ob man vorher Lävulose dargereicht hat oder nicht.

Indem wir diesen principiell wichtigen Satz feststellen, bemerken wir speciell, dass wir in dem Falle R. nach Lävulosedarreichung ein positives Ergebniss hatten, während wir ein solches ohne vorausgegangene Lävulosedarreichung vermisst haben. Wir sind also unter geeigneten Bedingungen im Stande, eine alimentäre Lävulosämie zu erzeugen bezw. den a priori vorhandenen geringen Lävulosegehalt der menschlichen Körpersäfte vorübergehend zu steigern.



Ohne dass wir uns hier auf eine weitergehende Besprechung unserer Versuchsergebnisse einlassen möchten, wollen wir nur betonen, dass wir den Hauptwerth unserer vorliegenden Untersuchung darin erblicken, dass hier zum ersten Male der sichere Beweis für das Vorkommen von Fruchtzucker in den menschlichen Gewebssäften geliefert ist, während die in der Litteratur bestehenden Angaben vielfach Zweifel zulassen. Dieselben bestehen in gleicher Weise mit wenigen Ausnahmen<sup>1)</sup> auch für den Harn.<sup>2)</sup> Und gerade hier beansprucht der Nachweis von Fructose jetzt ein besonders praktisches Interesse, da der eine von uns (St.)<sup>3)</sup> an der Hand eingehender Untersuchungen die Verwendung dieses Zuckers zur Prüfung der Leberfunction angegeben hat, ein Vorschlag, dessen Richtigkeit und Zweckmässigkeit jüngst von französischen Forschern, R. Lépine,<sup>4)</sup> Baylac<sup>5)</sup> u. A., als auch aus der Rosenstein'schen Klinik zu Leiden (Bruining)<sup>6)</sup> eine volle Bestätigung erfahren hat. Allerdings verhehlen wir uns nicht, dass für praktische Zwecke am Krankenbett der positive Ausfall der Seliwanoff'schen Reaction im Verein mit Linksdrehung und Gärfähigkeit für die Diagnose wird ausreichen müssen. In zweifelhaften Fällen und bei principiell wichtigen Experimentaluntersuchungen erscheint uns aber die Darstellung des beweisenden Fructosemethylphenylosazons

1. H. Rosin hat inzwischen seinen Lävulosebefund im Harn durch die Darstellung des Methylphenylosazons sicher gestellt.

2. Für die Deutung der Fälle von spontaner Lävulosurie erscheint mit Rücksicht auf Untersuchungen des einen von uns (St.) stets eine genaue Untersuchung der Leber und Feststellung der Art der vorher genossenen Ingesta (Obst, Honig etc.) nothwendig. So konnte erst jüngst bei einem Falle von Lebercirrhose nach Genuss von 100 g. Honig in dem 2 Stunden später gelassenen Urin deutliche Reduction, Gährung, Linksdrehung (0,2°) und positiver Ausfall der Seliwanoff'schen Reaction festgestellt werden.

3. Vergl. H. Sachs, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 38 und H. Strauss Deutsche med. Wochenschr., 1901.

4. R. Lépine, Semaine méd., 1901, Nr. 4.

5. Baylac, Franz. Congress f. innere Med. zu Toulouse, 1902.

6. Bruining, Berl. klin. Wochenschr., 1902, Nr. 26.

nothwendig. Hier darf der vieldeutigen Seliwanoff'schen Reaction nur der Werth einer orientirenden Probe zuerkannt werden; auf ihren positiven Ausfall hin kann ebensowenig die Diagnose auf Fruchtzucker erfolgen, wie etwa die auf Glucuronsäure im Harn oder Pentose in den Organen allein auf Grund der Tollens'schen Orcin- oder Phloroglucinprobe.<sup>1)</sup>

---

<sup>1)</sup> Siehe hierüber P. Mayer und C. Neuberg, Diese Zeitschr., Bd. XXIX, S. 256 (1900) und C. Neuberg und J. Wohlgemuth, Diese Zeitschr., Bd. XXXV, S. 45 (1902).