

Ueber Indoxylschwefelsäure, das Indican des Harns.

E. Baumann und L. Brieger.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts in Berlin.)

(Der Redaktion zugewandt am 1. Juni.)

Die indigobildende Substanz, die in manchen Pflanzen vorkommt, ist nach den Untersuchungen von Schunck¹⁾ ein Glycosid, das Indican, welches in reinem Zustande noch nicht dargestellt werden konnte. Dasselbe spaltet unter Einwirkung von Säuren Indigo ab. Schunck und Hoppe-Seyler²⁾ haben im Harn von Säugethieren das Auftreten einer Substanz constatirt, die ähnliche Eigenschaften zeigt, wie das Indican der Pflanze, d. h. bei Behandlung mit Säuren Indigo liefert. Schunck hielt daher diese Substanz für identisch mit dem Indican der Pflanze, während Hoppe-Seyler³⁾ wegen der leichteren Zersetzlichkeit des Indicans der Pflanze die Identität desselben mit der Indigo bildenden Substanz des Harns bezweifelte.

Jaffé⁴⁾ hat später als Quelle der Bildung des Indicans im Thierkörper das Indol ermittelt, welches nach Nencki's⁵⁾ Untersuchungen bei der Fäulniss der Eiweisskörper in erheblicher Menge gebildet wird. Jaffé hat ferner gezeigt, dass die Indigobildung bei der Zersetzung des Indicans in Folge einer gleichzeitig stattfindenden Oxydation eintritt und reichlicher ist, wenn man neben der Säure kleine Mengen oxydirender Mittel (Chlorwasser oder Chlorkalklösung) einwirken lässt.

Nencki⁶⁾ hat das durch Einwirkung von Säuren allein

¹⁾ Jahresber. d. Chemie. 1855, S. 659; 1857, S. 564; 1858, S. 465.

²⁾ Arch. f. pathol. Anatomie, 27, S. 388.

³⁾ Chemische Analyse, 4. Aufl. 1875, S. 191.

⁴⁾ Pflüger's Arch. 3, S. 448.

⁵⁾ Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 8, S. 336.

⁶⁾ Id. 9, S. 300.

aus dem Indican entstehende Spaltungsprodukt dargestellt. Dasselbe ist ein in Alkohol und Aether löslicher, theilweise sublimirbarer rother Farbstoff.

Der Eine von uns¹⁾ hat vor einigen Jahren nachgewiesen, dass das Indican in Pflanzen (*Isatis tinctoria*) durchaus verschieden ist von der Indigo bildenden Substanz des Harns, dass das Indican des Harns kein Glycosid ist, sondern die Eigenschaften einer starken Säure besitzt und bei seiner Zersetzung mit Salzsäure Schwefelsäure abspaltet. Das Indican des Harns wäre demnach als eine Aetherschwefelsäure aufzufassen, die sich von einem Hydroxylindol ableite wie die Phenolschwefelsäure vom Phenol.²⁾

Diese Schlüsse, welche der Eine von uns aus seinen früheren Untersuchungen gezogen hatte, konnten als unanfechtbar aber erst dann gelten, wenn dieselben durch Darstellung und Untersuchung des reinen Indicans aus dem Harn bestätigt werden konnten. Mittelst der von dem Anderen von uns³⁾ vor Kurzem beschriebenen Methode der Indolbereitung konnten wir uns gegen 20 grm. reines Indol verschaffen, das wir zur Gewinnung des Indicans innerhalb 5 Tagen an einen ca. 24 Kilo schweren kräftigen Hund verfütterten. Das Thier erhielt an den ersten 3 Tagen je 3 gr. Indol; da es diese Gaben sehr gut ertrug, bekam es am 4. Tage 4 grm. und am 5. Tage etwas über 5 grm. Indol. Der Harn des Thieres zeigte eine röthlich braune Farbe. Die schwefelsauren Salze waren schon nach dem ersten Tage sehr vermindert. Der Harn nach der letzten und grössten Indolgabe war frei von Sulfaten. Der Abnahme der Sulfate entsprechend waren die gepaarten Schwefelsäuren vermehrt.

Der an Indican enorm reiche Harn wurde zur Krystallisation eingedampft; die von Salzen und auskrystallisirtem Harnstoff getrennte braunrothe Mutterlauge wurde mit Alkohol von 90% extrahirt. Der ca. 5 Liter betragende alko-

¹⁾ Pflüger's Arch. 13, S. 291. Diese Zeitschr. 1, S. 60.

²⁾ E. Baumann. Die synthetischen Prozesse im Thierkörper, Berlin, Hirschwald 1878, S. 16.

³⁾ Brieger, diese Zeitschr. 3, S. 141.

holische Auszug wurde nun in der Kälte mit alkoholischer Lösung von Oxalsäure versetzt, so lange ein Niederschlag entstand. Nach 10 Minuten wurde der Niederschlag abfiltrirt, das Filtrat wurde ohne Zeitverlust mit weingeistiger Kalilösung bis zur schwach alkalischen Reaction versetzt, von ausgeschiedenem oxalsaurem Kali abfiltrirt, bis auf etwa 2 Liter eingeengt und mit einem gleichen Volumen Aether gefällt. Es entstand ein reichlicher syrupöser Niederschlag, der neben Salzen, Harnstoff, Extraktiv- und Farbstoffen den grösseren Theil der Indigo bildenden Substanz enthielt. Dieser Syrup wurde nun mit 96% Alkohol wiederholt ausgekocht und wieder mit dem gleichen Volumen Aether gefällt.

Durch wiederholte Fällung der alkoholischen Lösung¹⁾ mit Aether gelingt allmählig eine vollkommene Abtrennung des Harnstoffs, während beim Wiederauflösen dieser Niederschläge in Alkohol ein Theil der Extraktivstoffe ungelöst zurückbleibt. Die so gereinigte alkoholische Lösung wird nun mit Aether so lange versetzt bis eine bleibende Trübung entsteht. Beim Stehen in der Kälte scheiden sich an den Wänden des Gefässes Krystallwarzen, die aus mikroskopischen Blättchen bestehen, ab. Zuweilen finden sich in der Flüssigkeit nach einiger Zeit grosse durchsichtige Tafeln. Beide Krystallisationen bestehen aus der Kaliumverbindung der Indigo bildenden Substanz. Durch allmählichen weiteren Zusatz von Aether werden die Krystallisationen noch reichlicher, daneben entstehen aber noch immer schmierige Niederschläge. Letztere werden von den Krystallen durch Abwaschen mit kaltem Alkohol getrennt. Die Krystalle werden nun durch 1—2maliges Umkrystallisiren aus siedendem Alkohol gereinigt. Man erhält sie so in blendend weissen, glänzenden Tafeln und Blättchen, die in ihrem Aussehen erinnern an phenol- oder kresolschwefelsaures Kalium.

¹⁾ Ein kleinerer Theil des Indicans geht immer in die alkohol-ätherische Lösung über, aus welcher er durch viel absoluten Aether ausgefällt werden kann.

Die Analyse ergab die Zusammensetzung:

	C ₈ H ₆ NSO ₄ K.	
	Gef.	Ber.
C	37,8 %	38,2 %
H	2,35 »	2,39 »
K	15,7 »	15,5 »
SO ₄	37,9 »	38,2 »

Das Indican des Harns ist, wie aus der Analyse und aus den im Nachstehenden beschriebenen Eigenschaften hervorgeht, die Alkaliverbindung der Aetherschwefelsäure eines hydroxylierten Indols, die wir Indoxylschwefelsäure nennen. Es erscheint angezeigt für die Indigo bildende Substanz des Harns nur letztere Bezeichnung gelten zu lassen und den Namen «Indican» ausschliesslich für die Indigo bildende Substanz der Pflanze, die von der Indoxylschwefelsäure absolut verschieden ist, zu gebrauchen.

Das indoxylschwefelsaure Kali zeigt in seinem chemischen Verhalten die grösste Uebereinstimmung mit dem phenolschwefelsauren Kalium. Es ist in Wasser leicht, sehr schwer in kaltem, leichter in heissem Alkohol löslich. Die Indoxylschwefelsäure wird wie alle Aetherschwefelsäuren von Phenolen leicht beim Erwärmen mit verdünnter Salzsäure in Schwefelsäure und einen phenolartigen Körper gespalten; bei dieser Zersetzung verfärbt sich die Flüssigkeit und es tritt ein eigenthümlicher fäcalartiger Geruch verschieden von dem des Indols und Skatols auf. Ist die Flüssigkeit mässig concentrirt, so sieht man beim Beginne der Zersetzung die Abscheidung öligter Streifen und Tropfen. Diese, ebenso der Geruch verschwinden bald und das ursprüngliche Spaltungsprodukt ist alsdann übergegangen in einen amorphen braunen Körper, der sich in Alkohol, Aether und Chloroform mit rother Farbe löst; in Wasser ist er unlöslich. Neben diesem rothen Farbstoff enthält der braune Niederschlag immer Indigo. Wird der Luftzutritt bei der Zersetzung der Indoxylschwefelsäure vollkommen ausgeschlossen, so entsteht nur der rothe Farbstoff. Wird die Spaltung mit Salzsäure bei Gegenwart von gelinde oxydirenden Substanzen ausgeführt, so entsteht

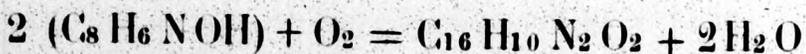
Indigo. Am besten eignet sich zu dieser Oxydation das Eisenchlorid; fügt man zu einer Lösung von indoxylschwefelsaurem Kalium in Wasser einige Tropfen Eisenchlorid, so tritt zunächst keine Reaktion ein; auf Zusatz von concentrirter Salzsäure entsteht schon in der Kälte erst Grün- dann Blau-Färbung. Letztere vermehrt sich allmählig; gelindes Erwärmen auf 60—70° beschleunigt die Ausscheidung des Indigos, der sich am Boden des Gefässes in dichten, krystallinischen Flocken sammelt. Die darüber stehende Flüssigkeit erscheint nur schwach gefärbt, wenn man nicht zu hoch erhitzt oder einen allzugrossen Ueberschuss von concentrirter Salzsäure angewendet hat.

Der ausgeschiedene Indigo enthält Spuren von dem rothen Farbstoff, die durch Waschen mit Alkohol entfernt werden können; alsdann ist er chemisch rein und identisch mit aus der Pflanze gewonnenen Indigblau.

Die Zersetzung der Indoxylschwefelsäure durch Salzsäure bei Gegenwart von Wasser geschieht also in folgender Weise:



Das erste Spaltungsprodukt ist das Indoxyl, das sich aber ausserordentlich leicht weiter verändert; dasselbe geht ohne Zweifel durch eine Condensation, in den rothen Farbstoff über, dessen Formel wir bis jetzt noch nicht genügend feststellen konnten. Durch Oxydationsmittel gelingt es nicht diesen rothen Farbstoff in Indigo überzuführen. Wichtiger ist die Oxydation des Indoxyls zu Indigo:



Indoxyl

Indigo

Diese Oxydation gelingt am leichtesten mittelst Eisenchlorid, wenn reine Indoxylschwefelsäure mit Salzsäure zerlegt wird. Sind neben der Indoxylschwefelsäure gleichzeitig andere leicht oxydirbare Substanzen in grösserer Menge in Lösung, wie dies im Harn der Fall ist, so ist es besser, zur Oxydation ein stärkeres Agens einige Tropfen Chlorwasser oder unterchlorigsäures Natron anzuwenden.

Erhitzt man indoxylschwefelsaures Kali in neutraler

wässeriger Lösung auf 120—130°, so tritt vollständige Zersetzung ein; es entsteht ein brauner Niederschlag, der neben Indigo den rothen Farbstoff enthält. In der wässerigen Lösung ist saures, schwefelsaures Kali.

Beim Erwärmen mit Wasser und Aetzkali ist die Indoxylschwefelsäure ebenso resistent wie die Phenolschwefelsäure; mehrstündiges Erhitzen auf 160—170° bewirkte bei Gegenwart von Aetzkali keine Zersetzung.

Wird das trockene indoxylschwefelsaure Kali in einer trockenen Reagiröhre rasch bis zum schwachen Glühen über einer starken Flamme erhitzt, so entwickeln sich unter Zersetzung purpurne Dämpfe von Indigo, der sich im kälteren Theile verdichtet; zugleich tritt der Geruch auf, der sich beim Sublimiren des Indigos entwickelt.

Die stets mehr oder weniger braunrothe Färbung des Harns, welcher reich an Indoxylschwefelsäure ist, wird, wie aus dem Mitgetheilten hervorgeht, nicht durch die Gegenwart dieser Säure selbst bedingt, sondern wie es scheint, durch weitere Oxydationsprodukte des Indols im Thierkörper. Diese braunen Farbstoffe stehen zu der Indoxylschwefelsäure in derselben Beziehung wie die braungrünen bis schwarzen Farbstoffe des Carbolharns zu der Phenolschwefelsäure¹⁾ in demselben.

Der eine von uns hat diese Untersuchung in Gemeinschaft mit Herrn F. Tie mann, welcher sich bereits an den beschriebenen Versuchen zur Charakterisirung des Indoxyls betheiligt hat, fortgesetzt.²⁾

¹⁾ Baumann und Preusse, diese Zeitschr. 3, S. 156.

²⁾ S. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. XII, Heft 9 u. 10.