

## Untersuchungen über die Glykuronsäure.

2. Mittheilung<sup>1)</sup>).

Von

**Dr. Hans Thierfelder.**

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut in Strassburg.)

(Der Redaction zugegangen am 21. September 1888.)

### Verbindung mit Benzoylchlorid.

Ueber Versuche, die Glykuronsäure zu benzoyliren, habe ich bereits in der vorigen Mittheilung berichtet. Bei Anwendung von Mengenverhältnissen, wie sie Baumann<sup>2)</sup> zur Darstellung eines Tetrabenzoyltraubenzuckers benutzt hat (1 Mol. Dextrose, 9 Mol. Benzoylchlorid, 18 Mol. Natronhydrat), entstand, wie erwähnt, nur ein ganz geringer Niederschlag. Ein besseres Resultat ergab sich beim Schütteln von Mischungen, die auf 1 Mol. Glykuronsäure 9 Mol. Benzoylchlorid und 12 Mol. Natronhydrat (in 10% Lösung) enthielten: es bildete sich ein reichlicher zäher Niederschlag, der abfiltrirt, gewaschen, über Schwefelsäure getrocknet und dann zur Entfernung der freien Benzoesäure wiederholt mit Petroläther ausgekocht, sowie zur Entfernung des benzoesauren Natriums und des Chlornatriums mit Wasser zerrieben und decantirt wurde. Der so gereinigte Körper löst sich in Alkohol, besonders in heissem, sehr leicht und scheidet sich aus der kalt gesättigten alkoholischen Lösung beim langsamen Verdunsten als zäher Syrup, aus der heiss

---

<sup>1)</sup> Ich nehme hier Gelegenheit, einen Druckfehler, der in der 1. Mittheilung (diese Zeitschrift, 11. Bd., S. 388) stehen geblieben ist, zu berichtigen. S. 391 Z. 26 muss es heissen: 10 Theile Euxanthinsäure werden, statt: 1 Theil Euxanthinsäure wird.

<sup>2)</sup> Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 19, S. 3218. 1886.

gesättigten in Form gleichmässig runder mikroskopischer Kügelchen ab; in Wasser ist er ganz unlöslich, zerreibt man ihn in Wasser und bringt die Mischung auf das Wasserbad, so schmilzt er schon bei gelinder Wärme zu einer weichen Masse zusammen, die beim Erkalten sofort fest, spröde und leicht pulverisirbar wird; er reducirt Fehling'sche Lösung; der Schmelzpunkt liegt bei  $107^{\circ}$ . Die Analyse der unter der Luftpumpe getrockneten Substanz ergab Werthe, welche am besten für eine zweifach benzoylirte Glykuronsäure stimmen.

0,16976 gr. Substanz lieferten 0,3744 gr.  $\text{CO}_2$  und 0,0641 gr.  $\text{H}_2\text{O}$ .

	Gefunden:	Berechnet für $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7(\text{C}_6\text{H}_5\text{CO})_2$ :
C	60,15	59,70
H	4,195	4,47

#### Verbindung mit aromatischen Aminen und Diaminen.

In der letzten Zeit ist von verschiedenen Seiten die Einwirkung aromatischer Amine und Diamine auf Dextrose und andere Zuckerarten studirt; es gelang zum Theil schön krystallisirende Verbindungen von Kohlehydraten mit Anilin und Toluidin<sup>1)</sup>, mit o-Diamidobenzol<sup>2)</sup>, mit m-p-Diamidotoluol<sup>3)</sup> zu gewinnen. Ich habe das Verhalten der Glykuronsäure zweien dieser Körper, dem Anilin und dem m-p-Diamidotoluol gegenüber untersucht.

Verbindung mit Anilin. Glykuronsäureanhydrid und Anilin wirken schon bei ganz gelinder Wärme sehr stürmisch auf einander. Die Reaction verläuft unter starker Erhitzung und Dunkelfärbung und so weitgehender Zersetzung, dass es nicht gelingt, analysirbare Producte zu erhalten; dagegen lieferten glykuronsaures Kali und Anilin eine krystallisirende Verbindung. Als Lösungsmittel für die beiden Sub-

<sup>1)</sup> Schiff, Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 140, S. 123, Bd. 154, S. 30; Sorokin, Journ. f. pr. Chem., N. F., Bd. 37, S. 291. 1888.

<sup>2)</sup> Griess u. Harrow, Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 20, S. 281, 2205, 3111. 1887.

<sup>3)</sup> O. Hinsberg, Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 20, S. 495. 1887.

stanzen benutzte ich einen wasserhaltigen Alkohol, der sich auch Sorokin<sup>1)</sup> bei der Darstellung der Glykosanilide als zweckmässig erwiesen hatte. Die Methode ist folgende: einige gr. glykuronsaures Kali werden in einem kleinen Kolben mit 5—10 cbcm. Anilin und 100—150 cbcm. 85—90% Alkohol übergossen und auf dem Wasserbad eine Zeit lang, vielleicht eine halbe Stunde, am Rückflusskühler gekocht; man filtrirt heiss ab, versetzt das im Kolben zurückgebliebene ungelöste glykuronsaure Kali abermals mit Anilin und Alkohol, erhitzt und filtrirt wieder und so fort, bis schliesslich alles Kalisalz in Lösung gegangen und in Reaction mit dem Anilin getreten ist. Die Filtrate werden etwas eingeengt und dann mit absolutem Alkohol und mit Aether gefällt: dabei scheidet sich der neue Körper sofort und vollständig in schneeweissen glitzernden Flitterchen ab, die unter dem Mikroskop als unregelmässige Blättchen oder zuweilen auch als gut ausgebildete, in Gruppen zusammenliegende Nadeln erscheinen. Man decantirt zur Entfernung des Anilin noch mehrmals mit absolutem Alkohol, filtrirt und trocknet über Schwefelsäure. Das getrocknete Präparat stellt eine weisse, glänzende, filzige Masse dar, die sich gut zerreiben lässt und sich in trockenem Zustande nicht zersetzt. Die Analyse der unter der Luftpumpe über Schwefelsäure getrockneten Substanz ergab folgende Werthe:

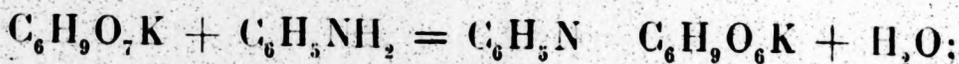
1. 0,1880 gr. lieferten 0,3243 gr. CO<sub>2</sub> und 0,0778 gr. H<sub>2</sub>O.
2. 0,2002 gr. lieferten 0,3440 gr. CO<sub>2</sub> und 0,0820 gr. H<sub>2</sub>O.
3. 0,2154 gr lieferten 0,0112 gr. NH<sub>3</sub>.
4. 0,1932 gr. lieferten 0,0518 gr. K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

	Gefunden:				Berechnet für C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub> KN:
	1.	2.	3.	4.	
C	47,0	46,86	—	—	46,9
H	4,6	4,55	—	—	4,56
N	—	—	4,28	—	4,56
K	—	—	—	12,0	12,7

Der Körper ist also durch Zusammentreten von einem Molekül glykuronsaures Kali und einem Molekül Anilin unter

1) L. c., S. 492.

Austritt von einem Molékül Wasser entstanden nach der Gleichung:



er entspricht vollkommen dem von Sorokin dargestellten Dextrosanilid, mit dem er auch im mikroskopischen Verhalten die grösste Aehnlichkeit zeigt.

Das anilinglykuronsaure Kali ist in Alkohol und Aether sehr wenig, in Wasser leicht löslich; wässrige Lösungen zersetzen sich an der Luft alsbald unter Braunfärbung; der Körper schmilzt bei  $177^\circ$  unter Zersetzung, nachdem schon vorher Dunkelfärbung eingetreten ist; er reducirt alkalische Kupferlösung in der Wärme und dreht die Ebene des polarisirten Lichtes nach links, verhält sich also auch in dieser Beziehung wie das Dextrosanilid.

Eine Bestimmung der specifischen Drehung scheiterte bisher an der Schwerlöslichkeit der Substanz in Alkohol und an der leichten Zersetzlichkeit der wässrigen Lösung. Zur Untersuchung benutzte ich eine wässrige Lösung, die in 1 cbcm. 0,02184 gr. anilinglykuronsaures Kali enthielt. Die specifische Ablenkung  $(\alpha)_D$ , welche einige Stunden nach Anfertigung der Lösung zu  $-18,8$  gefunden wurde, ging innerhalb der nächsten Zeit ganz bedeutend herunter und war nach 20 Stunden auf  $-4$  gesunken. Jetzt blieb sie mehrere Tage lang, während denen ich die Beobachtungen fortsetzte, constant; mit der Abnahme der Drehung Hand in Hand ging ein Dunklerwerden der Flüssigkeit. Es kann nicht zweifelhaft sein, dass der gefundene Werth nicht der richtige Ausdruck des Ablenkungsvermögens ist, sondern abhängig von Zersetzungs Vorgängen innerhalb der Lösung.

Verbindung mit Toluyldiamin. Bei der Darstellung dieser Verbindung erwies sich die oben beschriebene Methode als unbrauchbar; ich versuchte deshalb, die Körper in wässriger Lösung auf einander wirken zu lassen, und löste zu dem Zweck glykuronsaures Kali in Wasser, fügte Toluyldiamin<sup>1)</sup>

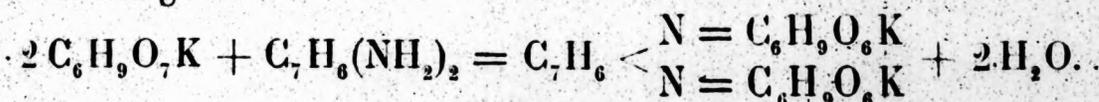
1) Das Präparat war aus m-Nitro-p-Toluidin durch Reduction mit Zinn und Salzsäure gewonnen.

hinzu und zwar so viel, dass etwas mehr als ein Molekül auf zwei Moleküle Kalisalz kamen, und dampfte die klare Flüssigkeit auf dem Wasserbad bis zum beginnenden Syrup ein; nach einiger Zeit erstarrte die ganze Masse krystallinisch; sie wurde mit absolutem Alkohol wiederholt zerrieben, um das überschüssige Toluyldiamin zu entfernen, und dann über Schwefelsäure getrocknet. Die Analyse lieferte folgende Zahlen:

1. 0,1889 gr. gaben 0,2718 gr. CO<sub>2</sub> und 0,0729 gr. H<sub>2</sub>O.
2. 0,5444 gr. gaben 0,1602 gr. K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

	Gefunden:	Berechnet für C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub> K <sub>2</sub> N <sub>2</sub> + 2 H <sub>2</sub> O:
C	39,24	38,9
H	4,29	4,78
K	13,19	13,31

Es sind also zwei Moleküle glykuronsaures Kali und ein Molekül Toluyldiamin in Reaction getreten nach der Gleichung:



Auch diese Verbindung entspricht vollkommen der, welche von Hinsberg<sup>1)</sup> durch Vereinigung von Traubenzucker und Toluyldiamin erhalten wurde.

Das toluyldiaminglykuronsaure Kali verhält sich den Lösungsmitteln gegenüber ebenso wie die Anilinverbindung; die wässrigen Lösungen scheinen noch weniger beständig zu sein; sie reduciren ebenfalls Fehling'sche Flüssigkeit und drehen die Polarisationsebene nach links; durch Eisenchlorid werden sie roth gefärbt, ebenso wie reine Toluyldiaminlösung. Das trockne Präparat bläht sich bei 130° sehr stark auf und zersetzt sich bei höherer Temperatur, ohne zu schmelzen.

Die beiden eben beschriebenen Verbindungen bieten insofern ein ganz besonderes Interesse dar, als sie linksdrehend sind, sich also in dieser Beziehung den gepaarten Glykuronsäuren anschliessen. Es ist nicht unwahrscheinlich, dass die

1) Loc. cit.

Linksdrehung in allen diesen Glykuronsäureverbindungen bedingt ist durch den Ort der Anlagerung. Dieselbe findet in sämtlichen in Rede stehenden Körpern an die Aldehydgruppe der Glykuronsäure statt. Auf diese Beziehung zwischen Drehungsrichtung und chemischer Constitution hat auch schon Sorokin<sup>1)</sup> aufmerksam gemacht.

### Einwirkung von Alkalien.

Die Versuche, welche den Zweck hatten, die unter dem Einfluss der Alkalien aus der Glykuronsäure entstehenden Producte kennen zu lernen, wurden in der Weise angestellt, dass je 5 gr. Glykuronsäure 1. mit 20 ccm. einer 25procentigen Kalilauge in einer Retorte 20—25 Stunden bis auf 120° erhitzt, 2. mit 8 ccm. einer 33procentigen Kalilauge 20 Stunden im Wasserbad bei 60—70°, schliesslich in der Siedehitze behandelt, und 3. mit 50 ccm. einer 25procentigen Kalilauge 48 Stunden im Wasserbad bei 30—50° digerirt wurden. In Versuch 2 und 3 waren nach dieser Zeit noch reichliche Mengen unzersetzter Glykuronsäure vorhanden. Die weitere Behandlung war stets dieselbe. Die Flüssigkeit wurde mit Schwefelsäure neutralisirt, eingedampft, angesäuert und mit Aether extrahirt; beim Verdunsten des Aethers hinterblieb ein zum Theil krystallisirender Rückstand, der in Wasser gelöst, auf dem Wasserbad zur Entfernung der flüchtigen Säuren längere Zeit digerirt und dann mit Soda übersättigt wurde; ich schüttelte nun mit Aether zur Abtrennung des etwa gebildeten Brenzkatechin, säuerte mit Essigsäure an und extrahirte abermals mit Aether zur Gewinnung der Protokatechusäure. Da durch Essigsäure die oxalsauren Salze nicht, die milchsauren nur zum Theil zerlegt werden, so mussten diese in der mit Aether ausgeschüttelten essigsauren Lösung zurückgeblieben sein; dieselbe wurde deswegen auf Oxalsäure, Milchsäure u. s. w. geprüft. In allen drei Versuchen hatte sich Oxalsäure gebildet, in dem ersten, in welchem das Alkali am stärksten eingewirkt hatte, sehr reichliche Mengen, ebenso war Brenzkatechin entstanden (Eisenchloridreaction); Protokatechusäure fehlte in

<sup>1)</sup> Loc. cit., S. 317.

Versuch 2 und 3, liess sich aber in Versuch 1 sehr scharf nachweisen (Blaufärbung mit Eisenvitriol). Die Untersuchung auf Milchsäure blieb gänzlich negativ. Die Mengenverhältnisse zwischen Kohlehydrat, Kali und Wasser und die Temperaturen, welche in den Versuchen zur Anwendung kamen, sind annähernd dieselben, wie sie Hoppe-Seyler<sup>1)</sup>, Kiliani<sup>2)</sup> und Nencki und Sieber<sup>3)</sup> benutzt haben, um den Zerfall des Traubenzuckers unter dem Einfluss der Alkalien zu studiren. Stets lieferte die Dextrose sehr reichliche Mengen von Milchsäure (10—40%), aber keine Oxalsäure. Glykuronsäure und Dextrose zerfallen also unter der Einwirkung von Alkalien in verschiedener Weise, sie stimmen aber darin überein, dass beide Brenzkatechin resp. Protokatechusäure bilden.

#### Einwirkung der Fäulniss.

Um zu erfahren, in welcher Weise die Glykuronsäure durch Fäulnissprocesse zerlegt wird, brachte ich am 13. Juli 1887 5—6 gr. Glykuronsäureanhydrid zusammen mit 4 gr. kohlen saurem Kalk, 50 ccm. geschlemmtem Kloakenschlamm aus der III und 450 ccm. Wasser in eine der Flaschen mit Quecksilbersverschluss, wie sie von Hoppe-Seyler<sup>4)</sup> für Gährungs zwecke construirt und beschrieben sind. Die Flasche war fast vollständig von der Flüssigkeit angefüllt. Die Gährung begann alsbald und dauerte bei mässiger Energie mehrere Monate an, um dann immer langsamer zu werden und im December ganz aufzuhören (1. Periode). Es wurde deshalb am 9. Februar 1888 etwas Flüssigkeit herausgenommen, 50 ccm. neuer Schlamm hinzugethan und die Flasche in einen Digestionsschrank, in dem eine constante Temperatur von 35—40° herrschte, gebracht. Sehr bald entwickelte sich eine sehr lebhaft e Gährung, die bis gegen den 20. März anhielt, dann aber ganz plötzlich sistirte (2. Periode). Die Flasche

1) Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 4, S. 346. 1871.

2) Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 15, S. 700. 1882.

3) Journ. f. pr. Chem. (2), Bd. 24, S. 498. 1881.

4) Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 11, S. 561. 1887.

wurde jetzt im Laboratorium bei gewöhnlicher Temperatur aufgestellt. Im Mai begann die Flüssigkeit plötzlich wieder zu gähren und lieferte noch bis Mitte August einige Absorptionsröhren voll Gas (3. Periode). Von da an hörte die Entwicklung gänzlich auf. Am 9. September wurde deshalb der Versuch unterbrochen und die Flasche geöffnet. Am Boden des Gefässes lag das Gemenge von Schlamm und kohlensaurem Kalk, auch an den Wandungen haftete es in dünner Lage, die Flüssigkeit war ziemlich klar, gelblich gefärbt. Weder in der Flüssigkeit, noch in dem Schlamm liessen sich Bakterien entdecken, nur vereinzelte sarcineähnliche Gebilde wurden beobachtet. Die Lösung reducirte noch Fehling'sche Flüssigkeit; die Menge der unzersetzten Glykuronsäure konnte aber nur noch eine ganz geringe sein: ein Titrationsversuch ergab, dass höchstens 0,2—0,3 gr. vorhanden waren. Die Vergärung war also eine vollständige. Die Flüssigkeit wurde sofort nach dem Oeffnen der Flasche bedeckt filtrirt und das Filtrat der Destillation unterworfen. Das Destillat reagirte neutral und enthielt weder Alkohol noch Aceton; die Lösung im Kolben wurde auf geringes Volumen eingedampft, mit Schwefelsäure angesäuert und abermals destillirt: es gingen keine organischen Säuren über, wie sich aus dem Verhalten gegen Lacmustinktur ergab. Um nun noch auf nicht flüchtige Säuren zu prüfen, wurde die Flüssigkeit im Kolben neutralisirt, eingedampft, angesäuert und wiederholt mit grossen Mengen Aether geschüttelt. Der abfiltrirte Aether hinterliess beim Verdunsten eine geringe Menge Syrup, der in Wasser gelöst und mit kohlensaurem Baryt gekocht wurde. Das Filtrat enthielt aber so wenig Barium, dass es unmöglich erscheinen musste, die Natur der organischen Säure zu ermitteln. Was nun die gasförmigen Producte betrifft, so wurde in der 1. Periode der Gärung neben sehr viel Kohlensäure, die zum Theil aus dem kohlensauren Kalk, der sich allmählich mit dem Glykuronsäureanhydrid umsetzte, stammte, und wenig Stickstoff aus der mit eingeschlossenen atmosphärischen Luft nur Wasserstoff gefunden. In der 2. Periode bildete sich neben Kohlensäure (23—39%) Wasserstoff und Sumpfgas in wechselnden Mengen,

und in der 3. Periode enthielt das entwickelte Gas nur Kohlensäure und Sumpfgas, und keine Spur von Wasserstoff. Ich lasse je eine Analyse aus der 1. und 3. Periode folgen:

$V_1$  = abgelesenes Volumen,

$V$  = auf  $0^\circ$  und 1 Met. Druck reducirtes Volumen.

Probe aus der 1. Periode.

	$V_1$	Druck.	Temp.	$V$
Gas feucht gemessen . . . . .	40,7983	0,7415	9,88	31,289
Nach Absorption der $\text{CO}_2$ . . . . .	10,5104	0,742	9,7	9,069

Uebergeführt in's Eudiometer:

Luft . . . . .	54,8590	0,7491	8,86	17,77
+ Gas . . . . .	72,0265	0,7493	9,05	26,26
+ O . . . . .	90,2383	0,7480	9,0	36,78
Nach der Explosion . . . . .	72,1230	0,744	8,15	26,35
Nach Absorption der $\text{CO}_2$ . . . . .	67,0570	0,749	7,8	26,29

Resultat : 71,015%  $\text{CO}_2$ ,  
23,73 » H,  
5,255 » N.

Probe aus der 3. Periode.

	$V_1$	Druck.	Temp.	$V$
Gas feucht gemessen . . . . .	18,5588	0,7565	16,6	10,73
Nach Absorption der $\text{CO}_2$ . . . . .	12,7438	0,760	16,6	7,08

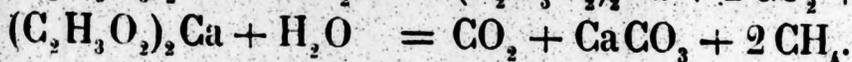
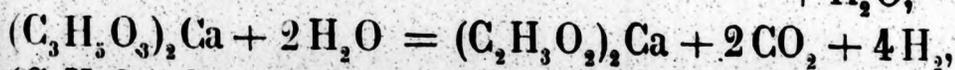
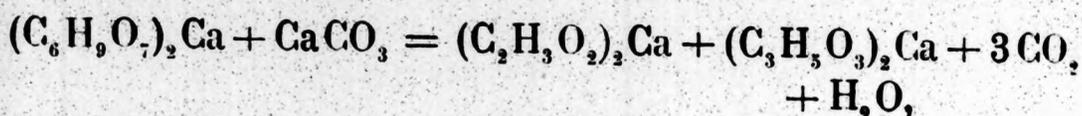
Uebergeführt in's Eudiometer:

Luft . . . . .	43,6692	0,7605	16,5	8,96
+ Gas . . . . .	61,3681	0,7632	16,18	16,31
+ O . . . . .	95,0010	0,7630	16,4	34,87
Nach der Explosion . . . . .	68,6307	0,7626	16,1	19,70
Nach Absorption der $\text{CO}_2$ . . . . .	45,4857	0,7560	16,77	12,37

Resultat : 34,02%  $\text{CO}_2$ ,  
65,8 »  $\text{CH}_4$ .

An der Hand der Analysen kann man die chemischen Vorgänge, welche sich an der Glykuronsäure abgepielt haben, folgendermassen auffassen: Dieselbe zerfällt zunächst in Essigsäure, Milchsäure und Kohlensäure, die Milchsäure weiter in Essigsäure, Kohlensäure und Wasserstoff: 1. Periode. Während letzterer Process noch fortdauert, geht auch die Essigsäure über in Sumpfgas und Kohlensäure: 2. Periode. Schliesslich ist nur noch Essigsäure vorhanden, die sich glatt in Kohlensäure und Sumpfgas umsetzt, wie Hoppe-Seyler<sup>1)</sup> gefunden hat: 3. Periode.

Die Prozesse lassen sich durch folgende Gleichungen ausdrücken:



<sup>1)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 11, S. 560. 1887.