

Zur Kenntnis der gepaarten Glukuronsäure.

Von

Yoshita Sera.

(Aus der medizinisch-chemischen Abteilung der Med. Akademie zu Ōsaka.)

(Der Redaktion zugegangen am 15. November 1913.)

Die Anzahl der bisher untersuchten gepaarten Glukuronsäuren ist nicht gering. Sie gehören meist zu der Glukosidklasse; bei einigen handelt es sich um Ester.

Die von Blum gewonnene Dichlorthymolglukuronsäure ist jedoch, anders als die genannten beiden Typen, aus den Paarlingen anscheinend ohne Wasseraustritt erfolgt. Später hat Kotake an einer gepaarten Glukuronsäure, «Glukurovanillinsäure», beobachtet, daß die Paarung der Vanillinsäure an Glukuronsäure auch ohne Wasseraustritt vor sich geht.

Nach Hildebrandt werden Vanillinglukuronsäure (= Glukurovanillinsäure?), sowie Thymotinpiperidid durch Emulsin gespaltet; auf Grund dieser Beobachtung schließt er: «Es scheint mir nicht ausgeschlossen, daß trotz der auch in einigen anderen Fällen scheinbar festgestellten Paarung ohne Wasseraustritt die glukosidische Struktur der gepaarten Verbindung auch dann wird angenommen werden müssen». Hiernach könnte man die Konstitution der Glukurovanillinsäure u. a. noch nicht als ganz festgestellt betrachten.

Ich habe aus dem Harn von mit Orcin gefütterten Kaninchen eine gepaarte Glukuronsäure, Orcinglukuronsäure, gewonnen. Da das Orcin dem Vanillin chemisch sehr nahe steht, interessierte es mich, diese gepaarte Säure näher zu untersuchen, in der Erwartung, dadurch einen Beitrag zur Strukturkenntnis der Glukurovanillinsäure liefern zu können.

¹⁾ Blum, Diese Zeitschrift, Bd. 16, S. 514 (1892).

²⁾ Kotake, Diese Zeitschrift, Bd. 45, S. 320 (1905).

³⁾ Hildebrandt, Hofmeisters Beitr., Bd. 7, S. 438 (1906).

Darstellung der Orcinglukuronsäure und Eigenschaften derselben.

Als Versuchstier bediente ich mich des Kaninchens. Das Tier bekam per os 1,5 g Orcin pro 2 kg Körpergewicht. Der in 24 Stunden entleerte Harn reagierte stark sauer, färbte sich schwach dunkelviolett, drehte intensiv nach links und gab Millonsche Reaktion schon in der Kälte. Wenn der Harn mit Mineralsäuren gekocht wurde, zeigte er eine deutliche Rechtsdrehung und gab nicht mehr Millonsche Reaktion.

Der gesammelte Harn wurde zunächst mit Bleiacetat gefällt und die vom Niederschlag abfiltrierte Flüssigkeit mit Bleiessig versetzt. Die dabei eintretende Fällung wurde abgesaugt, wiederholt mit Wasser gewaschen und dann mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Die vom Bleisulfid abfiltrierte Flüssigkeit wurde auf dem Wasserbade bis zu einer geringen Menge eingedampft, dann mit Baryumcarbonat 20 Minuten auf dem Wasserbade erhitzt und filtriert. Das Filtrat wurde zu Sirup eingedampft und an der Luft oder in einem Exsikkator stehen gelassen, wobei sich das Baryumsalz der Orcinglukuronsäure krystallinisch ausschied.

Das so gewonnene orcinglukuronsaure Baryum wurde wiederholt aus Wasser umkrystallisiert. Es krystallisierte in Nadeln, welche in Wasser leicht löslich, in Alkohol und Äther unlöslich waren. Es zeigte Millonsche Reaktion und Orcin-Salzsäureprobe und zwar ohne Zusatz von Orcin — die Reduktionsprobe war negativ —.

Eine wässrige Lösung des Baryumsalzes drehte die Ebene des polarisierten Lichtes nach links.

0,3996 g des Baryumsalzes, in 20 ccm Wasser gelöst, drehten in 1 dm-Rohr $1,47^\circ$ nach links.

$$[\alpha]_D = -73,58^\circ.$$

Analysen der Orcinglukuronsäure.

Zur Analyse wurde das Baryumsalz angewandt, welches bei 110 bis 120° C. zum konstanten Gewicht getrocknet war. Über 120° C. färbte es sich allmählich braun.

1. 0,2071 g der bei 110° C. getrockneten Substanz, mit Schwefelsäure abgeraucht, gaben 0,0625 g Baryumsulfat.

$$\text{Ba} = 17,76\%.$$

2. 0,3550 g der bei 115° C. getrockneten Substanz, mit Schwefelsäure abgeraucht, gaben 0,1083 g Baryumsulfat.

$$\text{Ba} = 17,95\%.$$

3. 0,1782 g der bei 120° C. getrockneten Substanz, mit Schwefelsäure abgeraucht, lieferten 0,0544 g Baryumsulfat.

$$\text{Ba} = 17,96\%.$$

4. 0,3373 g der bei 110° C. getrockneten Substanz lieferten 0,4992 g CO_2 ¹⁾ und 0,1368 g H_2O .

$$\text{C} = 40,36\%$$

$$\text{H} = 4,51\%.$$

5. 0,3254 g der bei 110° C. getrockneten Substanz lieferten 0,4795 g CO_2 ¹⁾ und 0,1347 g H_2O .

$$\text{C} = 40,19\%$$

$$\text{H} = 4,60\%.$$

Es wurden gefunden:

	1	2	3	4	5	Mittel
C	—	—	—	40,36	40,19	40,28%
H	—	—	—	4,51	4,60	4,56%
Ba	17,76	17,95	17,96	—	—	17,89%

Aus den Mittelwerten ergibt sich folgende Formel:



Berechnet dafür:

$$\text{C} = 40,45\%$$

$$\text{H} = 4,41\%$$

$$\text{Ba} = 17,81\%.$$

Spaltung der Orcinglukuronsäure.

15 g des Baryumsalzes wurden mit 250 ccm 5%iger Schwefelsäure versetzt, vom entstandenen Baryumsulfat abfiltriert und das Filtrat in einem kleinen Kolben am Rückflusskühler auf dem Sandbade 6 Stunden und 30 Minuten erhitzt, bis die Flüssigkeit nicht mehr Millonsche Reaktion gab. Die nach dem Erkalten von der Huminsubstanz abfiltrierte Flüssigkeit wurde mit Äther wiederholt ausgeschüttelt.

¹⁾ Der Kohlensäuregehalt im Baryumcarbonat, welches bei jeder Verbrennung im Schiffchen zurückblieb, wurde besonders bestimmt.

Das Ätherextrakt hinterließ beim Abdestillieren des Äthers einen Sirup. Er wurde mit Benzol aufgenommen und in einer Krystallisierschale auf dem Wasserbade vorsichtig eingedampft. Beim Erkalten schieden sich Krystalle ab, welche aus Wasser mehrmals umkrystallisiert wurden. Sie schmolzen, an der Luft getrocknet, bei 58° C.; bei 95° C. getrocknet, bei $106-108^{\circ}$. Die Analyse ergab folgende Zahlen:

0,2090 g der bei 95° C. getrockneten Substanz gaben 0,5190 g CO_2 und 0,1281 g H_2O .

Gefunden:

C = 67,73%,

H = 6,81%,

Berechnet für $\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_2$:

C = 67,74%,

H = 6,45%.

Die mit Äther erschöpfte Lösung wurde zunächst mit Ätzbaryt und dann Baryumcarbonat neutralisiert. Die vom Baryumsulfat abfiltrierte Flüssigkeit wurde im Vakuum destilliert. Aus der eingeengten Lösung wurde das Kaliumsalz durch Umsetzung des Baryums mittels Kaliumsulfat dargestellt.

Das Kaliumsalz wurde abgesaugt, mit einer Mischung von Alkohol und Wasser gewaschen und dann aus Wasser umkrystallisiert. Es krystallisierte in feinen Nadeln und war leicht löslich in Wasser, unlöslich in Alkohol und Äther. Die wässrige Lösung reduzierte Fehlingsche Lösung beim Erwärmen und zeigte eine Rechtsdrehung. Die Analyse ergab folgende Werte:

0,1887 g der bei 100° C. getrockneten Substanz, mit Schwefelsäure abgeraucht, gaben 0,0708 g Kaliumsulfat.

Gefunden:

K = 16,84%.

Berechnet für $\text{C}_6\text{H}_9\text{O}_7\text{K}$:

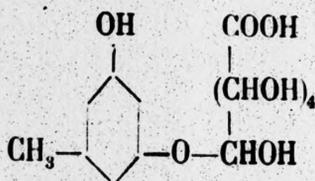
K = 16,85%.

Somit ist mit Sicherheit erwiesen, daß die Orcinglukuronsäure bei der Spaltung mit Schwefelsäure Orcin und Glukuronsäure gibt.

Ich habe auch einen Spaltungsversuch mit Emulsin angesetzt; das Resultat war aber negativ.

Konstitution der Orcinglukuronsäure.

Nach den Analysen- und Spaltungsergebnissen scheint es am ungezwungensten, die Konstitution analog derjenigen der Dichlorthymolglukuronsäure bzw. Glukurovanillinsäure folgenderweise auszudrücken.



= C₁₃H₁₈O₉.¹⁾

Über die Glukurovanillinsäure.

Nach Hildebrandt wird die Vanillinglukuronsäure, wie oben erwähnt, durch Emulsin gespaltet. Ich habe den Versuch mit der Glukurovanillinsäure einer Nachprüfung unterzogen. Da die Glukurovanillinsäure nach Kotakes und meiner Erfahrung sehr leicht zersetzlich ist, ist es unbedingt nötig, bei Spaltungsversuch eine Kontrollprobe anzustellen. Ich stellte aus dem glukurovanillinsäuren Baryum, welches nach Kotake aus dem Harn isoliert wurde, das Kaliumsalz dar und ließ auf letzteres folgenderweise das Emulsin einwirken.

1,6916 g des Kaliumsalzes wurden in 200 ccm Wasser gelöst, in zwei Portionen geteilt und mit Essigsäure schwach angesäuert; die eine nach Zusatz von 0,8 g Emulsin (Kahlbaum), die andere sofort bei Gegenwart von Toluol 16 Stunden lang in dem Brutofen stehen gelassen. Beide Portionen wurden dann mit Essigsäure stark angesäuert — ich benutzte deshalb Essigsäure, weil die genannte gepaarte Säure durch Mineralsäuren allmählich zersetzt wird — und in der Schüttelmaschine auf das gründlichste extrahiert. Aus beiden Extrakten wurden der Äther und Essigsäure, welche letztere bei der Extraktion in Äther übergegangen war, verjagt und die dabei zurückgebliebenen Rückstände gewogen.

Portion mit Emulsin	0,0070 g,
Kontrollprobe	0,0067 g.

Aus dem Versuch geht hervor, daß die Glukurovanillinsäure nicht durch Emulsin gespaltet wird, so daß vorläufig kein Grund mehr vorliegt, die Konstitution genannter Säure glukosidisch zu betrachten.

¹⁾ Ich habe mich überzeugt, daß das Baryumsalz der Orcinglukuronsäure bei 120° C. noch kein Wasser abgibt, und es scheint mir unwahrscheinlich, meine gepaarte Säure für C₁₃H₁₆O₈ + H₂O zu halten.