

Eine neue Reaktion auf Glukuronsäure.

Von

Guido Goldschmidt.

(Aus dem chemischen Laboratorium der k. k. deutschen Universität in Prag.)

Der Redaktion zugegangen am 15. März 1910.)

Vor längerer Zeit habe ich mich mit der Untersuchung¹⁾ eines gelben Farbstoffes beschäftigt, den H. Molisch auf mikrochemischem Wege in Scutellariaarten und in andern Labiaten entdeckt hatte. Die Substanz, welche den Namen «Scutellarin» erhielt, verhält sich ähnlich den zahlreichen natürlichen gelben Farbstoffen, die in so großer Mannigfaltigkeit und Verbreitung im Pflanzenreiche vorkommend, unter dem Namen Flavone zusammengefaßt werden und zumeist an Zucker gebunden als Glukoside beobachtet werden.

Schon bei der ersten, mit sehr geringen Mengen ausgeführten, daher unvollständig gebliebenen Untersuchung mußte ich, obwohl manches dafür sprach, Zweifel darüber äußern, daß das Scutellarin ein eigentliches Glukosid sei, weil die Molischsche Reaktion auf Zucker mit α -Naphthol und konzentrierter Schwefelsäure zwar eine intensive Farbenreaktion mit Scutellarin gab, nicht aber, wie bei den Zuckern, Kohlenhydraten und Glukosiden, eine tief violette bis rote, sondern eine smaragdgrüne. Beim Verdünnen mit Wasser entstand nicht eine violette, sondern eine hellgelbe Lösung, und die entstehende Ausscheidung ist nicht blauviolett, sondern ein gelber, flockig-gelatinöser Niederschlag.

Nachdem ich durch alljährlich vorgenommene Extraktion von *Scutellaria altissima*, die mein Kollege Molisch die Güte hatte in seinem Versuchsgarten zu kultivieren, eine ausreichende Quantität von Scutellarin gesammelt hatte, habe ich im ver-

¹⁾ Monatshefte f. Chem., Bd. XXII, S. 683 (1901).

flossenen Jahre das Studium dieser Substanz in Gemeinschaft mit Dr. E. Zerner wieder aufgenommen, und das Ergebnis unserer Arbeit wird demnächst in den Monatsheften für Chemie veröffentlicht werden.

Es hat sich hierbei ergeben, daß das Scutellarin $C_{21}H_{18}O_{12}$ bei der Hydrolyse in Scutellarin $C_{15}H_{10}O_6$ und Glukuronsäure gespalten wird, daß es demnach eine «gepaarte Glukuronsäure» ist. Die grüne Färbung, die es mit alkoholischer α -Naphthol-lösung und konzentrierter Schwefelsäure gibt, ist eine spezifische Reaktion auf Glukuronsäure, und sie gestattet den Nachweis derselben auch in deren Derivaten, in den gepaarten Glukuronsäuren und auch im normalen Harn.

Geprüft wurden alle zur Verfügung stehenden einschlägigen Substanzen, und zwar: Scutellarin, die daraus bereitete Glukuronsäure und Glukuron, Acetylscutellarin, die Phenylhydrazin- und *p*-Bromphenylhydrazin-Verbindungen der Glukuronsäuren, Euxanthinsäure, Urochloralsäure, Phenylglukuronsäure und Glycyrrhizinsäure,¹⁾ ausnahmslos mit positivem Ergebnis.

Da es eine vollkommen eindeutige Farbenreaktion auf Glukuronsäure bisher nicht gegeben hat, dürfte die nun aufgefundene, welche, wie ich mich durch sehr zahlreiche Versuche überzeugt habe, weder Hexosen noch Pentosen zeigen, auch für den Leserkreis dieser Zeitschrift nicht ohne Interesse sein.

Eine Spur Glukuronsäure oder Glukuron in etwa $\frac{1}{2}$ ccm Wasser gelöst und mit 1–2 Tropfen einer 15%igen alkoholischen α -Naphthollösung versetzt, gibt auf Zusatz von 3–4 ccm konzentrierter Schwefelsäure eine tief smaragdgrüne Lösung; sie hat einen Stich ins Blaue, wenn mehr Wasser angewendet wird, und die Farbe ist tief blau bis violett, wenn die Probe mit steigenden Mengen Wasser ausgeführt wird. Wie nach diesem Verhalten zu erwarten, kann man durch vorsichtigen

¹⁾ Die Glycyrrhizinsäure ist der erste Pflanzenstoff, der als gepaarte Glukuronsäure erkannt worden ist, und überhaupt der erste und bisher einzige Fall des Vorkommens von Glukuronsäure im Pflanzenreich gewesen. (Tschirch und Cederberg, Arch. f. Pharm., Bd. CCXLV, S. 97 (1907) und Tschirch und Gauchmann, Ebenda, Bd. CCXLVI, S. 549 (1908).

Zusatz von Wasser zu der grünen Flüssigkeit successive alle diese Farbentöne hervortreten lassen und eventuell, wenn die Verdünnung nicht zu weit getrieben war, durch Zusatz konzentrierter Schwefelsäure den Farbenwechsel in umgekehrter Reihenfolge wieder in Erscheinung bringen.

Die grünen Lösungen werden, im offenen Gefäße an der Luft stehend, allmählich von der freien Oberfläche aus (wohl infolge Wasseranziehung) violett, und auch beim Erwärmen werden sie violett bis rot.

Für das Gelingen der Probe ist daher, insoferne sofort gemischt und nicht unterschichtet wird, zu empfehlen, die Wassermenge nicht zu groß zu nehmen: auch wenn man sehr verdünnte Glukuronsäurelösungen prüft, wird besser ein kleines Volumen verwendet. Schichtet man aber die wässrige Flüssigkeit über die Schwefelsäure, dann ist diese Vorsicht nicht notwendig, denn dann färbt die nach abwärts diffundierende Lösung die Schwefelsäure unter allen Umständen grün.

Die Reaktion hat nichts gemein mit der von Macquenne¹⁾ entdeckten grünen Farbenreaktion, welche, bei der Hydrolyse, Methylfurfurol liefernde Verbindungen und dieses selbst mit alkoholischer Schwefelsäure gibt, und selbstverständlich ist, daß sie nicht etwa auf einen Gehalt unserer Schwefelsäure an salpetriger Säure²⁾ zurückzuführen ist.

In Wasser schwerlösliche Körper, wie Scutellarin oder Euxanthinsäure, werden in wässriger Suspension angewendet.

Es ist schon erwähnt worden, daß die Probe auch den Nachweis von Glukuron im Harn gestattet, doch ist hier vorsichtiges Operieren notwendig.

Udránszky³⁾ hat vor vielen Jahren die Beobachtung

¹⁾ C. R., Bd. CIX, S. 571 (1889).

²⁾ Neuberg hat beobachtet, daß salpetersäurehaltige Schwefelsäure bei der Molischschen Probe die Bildung eines hellgrünen Saumes neben dem violetten Ring an der Trennungsoberfläche der Flüssigkeitsschichten veranlaßt: Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 564 (1900). Ich habe mich überzeugt, daß α -Naphthol selbst bei Anwesenheit außerordentlich kleiner Mengen von salpetriger Säure mit Schwefelsäure allein eine sehr intensiv grüne Farbenreaktion gibt.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XII, S. 384 (1888).

gemacht, daß, wenn man zu einem Tropfen einer 0,05 %igen Traubenzuckerlösung zwei Tropfen einer 15 %igen alkoholischen α -Naphthollösung gibt und vorsichtig $1\frac{1}{2}$ ccm konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet, sich über einem (durch die Einwirkung von α -Naphthol auf die Mineralsäure hervorgerufenen)¹⁾ grünen Saum nach kurzer Zeit ein dunkelvioletter Ring einstellt; dasselbe fand er beim Harne.²⁾

Diese Erscheinung habe ich trotz sehr oft wiederholter Versuche nie hervorbringen können, wenn ich sie mit Zuckerlösungen anstellte, und auch dann nicht, wenn ich nur α -Naphthol anwendete; dieses letztere färbt konzentrierte Schwefelsäure, wenn man die Lösung kurze Zeit stehen läßt, schwach violett.

Macht man den Versuch mit normalem Harne, so kann man sie jedesmal beobachten. Man verfährt zweckmäßig in folgender Art:

$1\frac{1}{2}$ —1 ccm Harn wird mit 2 Tropfen der üblichen α -Naphthollösung versetzt und mit 3—4 ccm konzentrierter Schwefelsäure vorsichtig unterschichtet oder noch besser, die mit Naphthol gemischte Harnprobe sehr vorsichtig auf die Schwefelsäure fließen gelassen; an der Berührungsfläche der Schichten erscheint ein violetter Ring, der beim ruhigen Stehen nach der Harnseite an Breite zunimmt, während infolge Diffusion des Harns in die Schwefelsäure diese von der Grenzfläche aus nach unten sich grün färbt; manchmal sieht man auch dunkelgrüne Schlieren sich nach unten verbreiten. Mischt man dann die beiden Schichten, so wird die grüne Farbe verdeckt durch die dunkle Färbung, die, wie Udránszky³⁾ auch schon wußte, der Harn auf Zusatz von Schwefelsäure allein annimmt.

¹⁾ 10 ccm Harn gibt die Reaktion sehr deutlich, und zwar nicht nur den grünen Ring bezw. die Schlieren, sondern, wenn man die Probe, ohne sie gemischt zu haben, etwa $1\frac{1}{4}$ Stunde ganz ruhig stehen läßt und dann durchmischt, färbt sich die ganze Flüssigkeit smaragdgrün. In dieser Weise konnte ich die Reaktion noch sehr schön eintreten sehen, wenn ich nur

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XII, S. 361.

²⁾ Ebenda, S. 387.

³⁾ Ebenda, S. 381 (1888).

einen Tropfen Harn verwendete. Nur in ganz vereinzelt der in großer Zahl geprüften Harne gesunder Individuen versagte sie dann: ganz im Stiche gelassen hat die Reaktion in keinem einzigen Falle.

In einer in allerjüngster Zeit erschienenen Abhandlung haben C. Tollens und F. Stern¹⁾ die von ihnen ausgeführten quantitativen Bestimmungen der Glukuronsäure im menschlichen Harn veröffentlicht, wonach der tägliche Durchschnittswert im normalen Harn mit 0,37 g anzunehmen ist oder 0,025 g in 100 ccm.

Legt man diesen Wert der Berechnung zugrunde, so ergibt sich, daß die Reaktion mit einem Tropfen (30 Tropfen = 1 ccm) ausgeführt, es noch gestattet, mit Sicherheit 0,000008 g oder 0,008 mg im Harne nachzuweisen.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LXIV, S. 40 (1910).