

Über das Scutellarin

von

Guido Goldschmiedt und Ernst Zerner.

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

(Vorgelegt in der Sitzung am 17. März 1910.)

Vor längerer Zeit hat der eine von uns mit H. Molisch eine Abhandlung¹ unter dem Titel »Über das Scutellarin, einen neuen Körper bei *Scutellaria* und anderen Labiaten« veröffentlicht, in deren ersten Teil Molisch »phytochemische Beobachtungen« über den genannten Pflanzenstoff zur Kenntnis brachte, während im zweiten Teil G. Goldschmiedt über die »chemische Untersuchung des wässerigen Extraktes von *Scutellaria altissima*« berichtete.

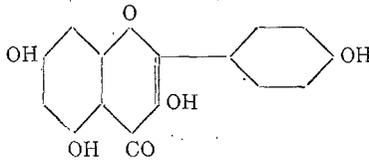
Die damals ausgeführte chemische Untersuchung, in welcher festgestellt worden ist, daß in dem wässerigen Extrakt neben Scutellarin Zimmt- und Fumarsäure enthalten sind, führte nicht zur endgültigen Erkenntnis der Struktur des neuen Körpers, da nur sehr geringe Mengen desselben zur Verfügung standen. Die Beschaffung ausreichenden Materials für die Fortsetzung der Arbeit war nur durch das Entgegenkommen des Herrn Prof. H. Molisch ermöglicht, der auf einem Beete im Versuchsgarten des pflanzenphysiologischen Institutes der Prager deutschen Universität die *Scutellaria altissima* kultivierte; die Ernte wurde alljährlich verarbeitet.²

¹ Monatshefte für Chemie, 22, 679 (1901).

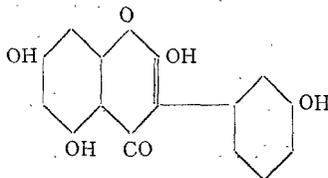
² Obwohl ich in der Zwischenzeit gelegentlich einige Versuche, insbesondere auch die Kalispaltung des Scutellareins ausgeführt habe, ist die Hauptarbeit erst in Gemeinschaft mit meinem Mitarbeiter Dr. Zerner seit Oktober 1908 energisch betrieben worden. Goldschmiedt.

Für Scutellarin war aus zwei Analysen die Formel $C_{21}H_{20}O_{12}$ ermittelt worden, doch wurde dieselbe »nur mit aller Reserve als die Molekularformel der neuen Substanz bezeichnet«, denn »die bisherige Untersuchung hat, wenn sie auch keine Tatsachen zutage gefördert hat, die mit dieser Formel im Widerspruch stehen, auch nicht genügendes Material als sichere Stütze derselben geliefert«.

Bei der Hydrolyse der Substanz, auf die im speziellen Teil ausführlich zurückzukommen sein wird, war ein Körper von der Zusammensetzung $C_{15}H_{10}O_6$ erhalten worden, dem der Name Scutellarein beigelegt worden ist. Dieser Körper zeigte alle spezifischen Eigenschaften der Flavonkörper. Bei der Spaltung mit Kalihydrat lieferte er geringe Mengen eines Körpers, der die Holzspanreaktion des Phloroglucins mit großer Intensität gab, und Paraoxybenzoesäure in beträchtlicher Quantität. Einem solchen Körper mußte, wenn er tatsächlich ein Flavonolderivat war, nach den zahlreichen Erfahrungen die Formel



zukommen; diese ist aber mit vollster Sicherheit, seither auch durch Synthese,¹ als jene des Kämpferols, das mit Scutellarein gewiß nicht identisch ist, ermittelt worden² und deshalb sprach Goldschmiedt die Meinung aus, es könnte für das Scutellarein vielleicht eine der Formel



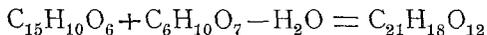
¹ v. Kostanecki, Lampe und Tambor, B. 37, 2096 (1904).

² Es ist nicht verständlich, was H. Euler (Grundlagen und Ergebnisse der Pflanzenchemie, 1908) bestimmen konnte, von Scutellarein zu sagen, es sei »vielleicht identisch mit Kämpferol«.

entsprechende Struktur in Betracht kommen; ein solcher Körper müßte bei der Kalispaltung auch Phloroglucin und Paraoxybenzoesäure liefern. Es sei gleich vorgehend erwähnt, daß diese Vermutung durch die weitere Untersuchung nicht bestätigt werden konnte.

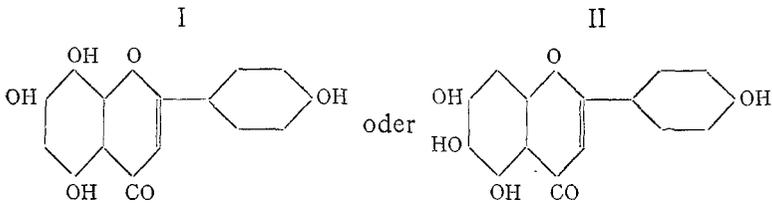
Zunächst wurde an größeren Mengen des Materials festgestellt, daß es im wesentlichen einheitlicher Natur ist; nur sehr geringe Mengen eines zweiten Körpers, der sich nicht isolieren ließ, können darin enthalten sein.

Bei der Hydrolyse entsteht neben dem Scutellarein Glucuronsäure; Scutellarin ist daher eine gepaarte Glucuronsäure, eine glucosidartige Verbindung des Scutellareins mit der genannten Säure, woraus sich ergibt, daß dem Scutellarin anstatt der früher aufgestellten Formel $C_{21}H_{20}O_{12}$ nach der Gleichung:

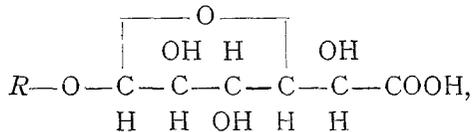


die um 2 Wasserstoffatome ärmere Formel zukommt. Diese Formel läßt sich auch zwanglos, nicht nur aus den zahlreichen Analysen, sondern auch aus den Umsetzungen der Substanz ableiten. Scutellarin lenkt wie alle gepaarten Glucuronsäuren die Ebene des polarisierten Lichtes nach links ab.

Die Struktur des Scutellareins kann aus den im experimentellen Teil mitgeteilten Beobachtungen abgeleitet werden. Es ist ein kräftig beizenziehender Farbstoff, der Salze sowohl mit Basen als mit Säuren gibt; durch Acetylierung und Alkylierung sind vier Hydroxyle nachgewiesen. Bei der Kalispaltung entsteht in nahezu quantitativer Ausbeute *p*-Oxyacetophenon neben einem bisher nicht in faßbare Form zu bringenden Körper, der dieselbe Holzspanreaktion gibt wie Phloroglucin. Es kann somit keinem Zweifel unterliegen, daß Scutellarein ein Flavonderivat ist, das eine Hydroxylgruppe in 4'-Stellung, drei im Benzolkerne des Chromons enthält. Da sich nun unter den Spaltungsprodukten mit Alkali eine Verbindung findet, welche die Phloroglucinreaktion gibt, so müssen zwei Hydroxylgruppen die 1- und 3-Stellung einnehmen und es bleibt für das vierte Hydroxyl die Frage offen, ob es in 2 oder 4 steht. Das Scutellarein hätte hiernach eine der nachstehenden Strukturformeln:



Das Scutellarein dürfte im Scutellarin mit der Glucuronsäure in ähnlicher Art verbunden sein wie in der Euxanthinsäure und den anderen gepaarten Glucuronsäuren, also nach dem Schema:



wobei *R* den Scutellareinrest bedeutet.

Die Frage, durch welches der vier Hydroxyle die Bindung an die Glucuronsäure statthat, bleibt offen; wir wollen dieselbe noch nicht diskutieren, obwohl sich hierüber Vermutungen aussprechen ließen, da wir ihr experimentell näher treten wollen.

Experimenteller Teil.

Scutellarin.

Gewinnung, Prüfung auf Homogenität, Zusammensetzung. Die Gewinnung des Rohscutellarins geschah genau nach dem seinerzeit von Goldschmiedt beschriebenen Verfahren; die Ausbeuten bewegten sich bei den einzelnen Darstellungen innerhalb der Grenzen 0·98 bis 0·48% vom Gewichte der extrahierten Blätter der Pflanzen (im Frühjahr auch der Blüten). Die Abnahme der Ausbeute verlief stetig mit dem Alter der Pflanze.

Da wir es jetzt mit größeren Mengen zu tun hatten, konnten wir nicht daran denken, die Reinigung des Rohproduktes durch Auflösen desselben vorzunehmen und durch fraktionierte Krystallisation die Homogenität des Materials zu prüfen; wegen der Schwerlöslichkeit der Substanz in allen indifferenten organischen Lösungsmitteln wären hierzu kolossale Flüssigkeits-

mengen erforderlich gewesen. Es wurde deshalb in einem Extraktionsapparat gearbeitet, in welchem das Extraktionsgut sich im Dampfstrom des als Lösungsmittel angewandten Methylalkohols befand. Sobald der Alkohol sich so weit angereichert hatte, daß beträchtliche Quantitäten auskrystallisiert waren und die Flüssigkeit zu stoßen anfang, wurde Niederschlag und Flüssigkeit in ein großes Stöpselglas entleert und der Apparat neuerdings mit Rohscutellarin und Holzgeist beschickt. In mehreren gleichzeitig im Betriebe stehenden Apparaten wurde so das ganze Rohprodukt aufgelöst. In den Soxhlet-hülsen war nur mehr ein feines schwarzes Pulver enthalten, das größtenteils anorganisch, und zwar bei der ersten Filtration des wässerigen Extraktes durch die Filter gegangene Gartenerde war.

Die Flüssigkeit wurde dann durch Filtration vom auskrystallisierten hellgelben Scutellarin getrennt und durch Destillation so viel Alkohol entfernt, bis sich neuerdings beträchtliche Mengen fester Substanz abgeschieden hatten.¹ Das Filtrat wurde nochmals konzentriert und so eine dritte Fraktion gewonnen; aus den letzten Laugen schieden sich nur mehr geringe Mengen verschmierter Substanz aus, welche nicht weiter berücksichtigt worden sind.

Je eine Partie dieser drei Fraktionen wurde einer systematischen Krystallisation unterworfen und auf diese Weise eine große Zahl von Fraktionen gewonnen, die nun jede für sich auf ihr Verhalten gegen Reagenzien und beim Erhitzen geprüft wurden; zum größten Teile wurden sie auch analysiert.

Die einzelnen Fraktionen unterschieden sich manchmal durch ihre Farbenintensität. Die Farbe ist stets blaßgelb, aber immerhin mit konstatierbaren Unterschieden. Ein oder das andere Mal schied sich die Substanz aus dem Methylalkohol in gelatinöser Form aus, durch Verreiben mit geringen Mengen Wasser konnte in der Regel Krystallisation bewirkt werden. In einem vereinzelt Falle, wo dies nicht gelingen wollte, genügte

¹ Es sei bemerkt, daß die so außerordentlich schwer lösliche Substanz, einmal gelöst, nicht allzu leicht wieder ausfällt; es muß ziemlich viel Lösungsmittel abdestilliert werden, ehe eine Ausscheidung erfolgt.

es, die Substanz in möglichst wenig verdünnter Sodalösung aufzunehmen und sofort mit Salzsäure wieder auszufällen, um ein allen übrigen Fraktionen ähnliches Produkt zu erzielen. Im Kapillarröhrchen erhitzt, beginnt die Substanz schon unter 200° sich zu schwärzen; manche Fraktionen zeigen schon bei 180° die ersten Anzeichen der Zersetzung, andere erst bei 190°, vollkommen schwarz sind die Proben zwischen 200 und 220°, aber selbst bei 330° ist Verflüssigung noch nicht eingetreten. Die Schmelzpunktbestimmung ist, da sich die Verbindung vor dem Schmelzen zersetzt, nicht als Reinheitsprobe verwendbar; die Differenzen, die beim Erhitzen der einzelnen Fraktionen beobachtet worden sind, sind geringfügig und werden durch verschiedene Geschwindigkeit des Erhitzens, verschiedene Dimensionen des Kapillarröhrchens und verschiedene Substanzmengen ausreichend erklärt.

Die schon früher von Goldschmiedt beschriebenen Reaktionen des Scutellarins zeigen alle Fraktionen in ganz gleicher Weise; sie sollen nebst einigen neu beobachteten nochmals mitgeteilt werden, da einige von Wichtigkeit sind.

Eine alkoholische Lösung von Scutellarin gibt, mit Bleiacetat versetzt, einen roten Niederschlag, mit Eisenchlorid eine intensiv grüne Färbung, die sich beim Erwärmen der Flüssigkeit in eine rote umwandelt, wenn kein großer Überschuß des Reagens angewendet wird; alkoholische Kali- oder Natronlauge sowie Alkaliacetate fallen rotgelbe Niederschläge, die an der Luft bald spinatgrün werden. Trockenes Scutellarin, mit Barytwasser befeuchtet, wird ebenfalls rot; die Probe färbt sich beim Stehen an der Luft allmählich, auf Zusatz eines Oxydationsmittels (Chlor- oder Bromwasser, Wasserstoffsperoxyd) sofort, gleichfalls intensiv spinatgrün.¹ In wässrigen Laugen löst sich die Substanz mit gelbroter Farbe, die ziemlich rasch nachdunkelt. Leicht löslich, ohne daß Nachdunkeln eintritt, ist Scutellarin in Natriumacetat, Natriumhydrophosphat, Ferrocyankalium, Kaliumsulfid, Borax, Kaliumnitrit, Natriumbicarbonat, pyrophosphorsaurem Natrium (nicht in Metaphosphat),

¹ Diese Reaktion ist zuerst von H. Molisch mikrochemisch beobachtet worden.

Wasserglas und auch im menschlichen Harn; durch Säurezusatz wird es wieder ausgefällt. Auffallend ist die Erscheinung, daß bei Zusatz von Säure die Fällung oft nicht sofort, sondern erst nach kurzem Stehen oder Erwärmen erfolgt. Aus der Lösung in Kaliumnitrit fällt beim Ansäuern ein roter krystallinischer Niederschlag heraus, der noch nicht näher untersucht wurde.

In Wasser ist Scutellarin nur spurenweise löslich. In allen organischen nicht basischen Lösungsmitteln ist es auch bei Kochhitze sehr schwer löslich, am besten wird es noch von siedendem Eisessig gelöst. Löslichkeitsversuche mit verdünntem Methyl- und Äthylalkohol ergaben, daß steigender Alkoholgehalt — nach der Intensität der Färbung der Lösung zu schließen — die Löslichkeit vermehrt.

Das Scutellarin reduziert ammoniakalische Silberlösung schon in der Kälte, Fehling'sche Lösung erst beim Erwärmen.

Die schon von Goldschmiedt beschriebene intensive Farbenreaktion, welche Scutellarin mit alkoholischer α -Naphthollösung und konzentrierter Schwefelsäure gibt, hat an Bedeutung gewonnen, seitdem, wie aus dem Folgenden hervorgeht, festgestellt werden konnte, daß sie eine spezifische Reaktion auf Glucuronsäure ist.

Eine kleine Probe Scutellarin wird in etwa $1/2 \text{ cm}^3$ Wasser verteilt, zwei Tropfen alkoholischer α -Naphthollösung zugesetzt und dann mit 2 bis 3 cm^3 konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet. An der Trennungsfläche erscheint ein farbiger Ring, der unten in der Regel grün, oben rot ist; mischt man die beiden Schichten, so nimmt die ganze Flüssigkeit eine tief-smaragdgrüne Färbung an, nur, wenn zu viel Wasser angewendet worden ist, ist die Farbe violett bis rotbraun.

Dieses Verhalten, durch welches sich das Scutellarin von jenem der eigentlichen Glucoside gegen das Molisch'sche Reagens unterscheidet, bestimmte Goldschmiedt, schon in der ersten Publikation über Scutellarin die Glucosidnatur dieses Pflanzenkörpers in Frage zu stellen.

Gegen Methylorange und gegen Kongorotpapier reagiert das Scutellarin in wässriger und verdünnt alkoholischer Lösung schwach sauer, nur schwach wohl deshalb, weil die Lösungen

extrem verdünnt sind. Mit Bariumcarbonat in Wasser suspendiert, treibt es bei Kochhitze Kohlensäure aus.

Beim Kochen mit zirka zwölfprozentiger Salzsäure wird aus Scutellarin Furfurol erhalten, das durch die Reaktionen mit Anilinacetat und mit Phloroglucin-Salzsäure nachgewiesen wurde.

Nachstehend das Ergebnis der Analysen, die mit bei 125 bis 130° getrockneter, aus verschiedenen Fraktionen stammender Substanz ausgeführt worden sind. Es sei bemerkt, daß die Substanz beim Trocknen etwas heller gefärbt wird. Fast bei sämtlichen Verbrennungen blieb eine Spur weißer Asche¹ zurück, die in der Rechnung von der gewogenen Substanzmenge abgezogen wurde.

- I. 0·1842 *g* Substanz gaben 0·3674 *g* Kohlendioxyd und 0·0642 *g* Wasser
0·0005 *g* Asche).
- II. 0·2156 *g* Substanz gaben 0·4320 *g* Kohlendioxyd und 0·0756 *g* Wasser
(0·0005 *g* Asche).
- III. 0·2082 *g* Substanz gaben 0·4130 *g* Kohlendioxyd und 0·0732 *g* Wasser
(0·0006 *g* Asche).
- IV. 0·2217 *g* Substanz gaben 0·4427 *g* Kohlendioxyd und 0·0791 *g* Wasser
(0·0008 *g* Asche).
- V. 0·1982 *g* Substanz gaben 0·3898 *g* Kohlendioxyd und 0·0704 *g* Wasser
(0·0007 *g* Asche).
- VI. 0·2017 *g* Substanz gaben 0·4022 *g* Kohlendioxyd und 0·0707 *g* Wasser
(Asche nicht zurückgewogen).
- VII. 0·1996 *g* Substanz gaben 0·3919 *g* Kohlendioxyd und 0·0736 *g* Wasser
(0·0005 *g* Asche).
- VIII. 0·1927 *g* Substanz gaben 0·3853 *g* Kohlendioxyd und 0·0705 *g* Wasser.
- IX. 0·2223 *g* Substanz gaben 0·4435 *g* Kohlendioxyd und 0·0866 *g* Wasser
(sehr wenig Asche).
- X. 0·2075 *g* Substanz gaben 0·4182 *g* Kohlendioxyd und 0·0596 *g* Wasser
(sehr wenig Asche).
- XI. 0·1879 *g* Substanz gaben 0·3750 *g* Kohlendioxyd und 0·0586 *g* Wasser
(sehr wenig Asche).
- XII. 0·1517 *g* Substanz gaben 0·3076 *g* Kohlendioxyd und 0·0612 *g* Wasser.
- XIII. 0·2192 *g* > > 0·4208 *g* > > 0·0814 *g* >

¹ Diese Spur Asche vollkommen zu entfernen, ist nur in den seltensten Fällen gelungen. Da die Substanz aus wässriger Lösung durch Salzsäure gefällt und oft aus Holzgeist umkrystallisiert worden ist, erscheint es nicht unwahrscheinlich, daß Scutellarin, welches, wie aus nachfolgendem hervorgeht, eine Säure ist, durch Glasbestandteile zu sehr geringem Teile neutralisiert wird.

XIV.	0.2225 g	Substanz	gaben	0.4460 g	Kohlendioxyd	und	0.0821 g	Wasser.
XV.	0.1953 g	>	>	0.3876 g	>	>	0.0711 g	>
XVI.	0.1990 g	>	>	0.3983 g	>	>	0.0752 g	>

In 100 Teilen:

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
C	54.55	54.77	54.22	54.66	53.83	54.39	53.69	54.50
H	3.88	3.90	3.92	3.98	3.93	3.90	4.11	4.06

	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVI
C	54.41	54.97	54.43	55.30	54.85	54.67	54.12	54.58
H	4.32	3.20	3.47	4.48	4.32	4.09	4.44	4.20

	Gefunden im Mittel	Berechnet für	
		$C_{21}H_{18}O_{12}$	$C_{21}H_{20}O_{12}$
C	54.44	54.54	54.31
H	4.20	3.90	4.31

Früher hatte Goldschmiedt gefunden:

C	54.04	54.18
H	4.28	4.29.

Auf Grund der zahlreichen Analysen ist die Entscheidung für eine der beiden in Betracht kommenden Formeln nicht mit absoluter Sicherheit zu treffen, wenn auch die Mehrzahl der Analysen die Formel mit kleinerem Wasserstoffgehalt wahrscheinlich macht. Die im folgenden zu beschreibenden Umsetzungen der Substanz und die Natur ihrer Spaltungsprodukte lassen jedoch über die Richtigkeit der Formel $C_{21}H_{18}O_{12}$ keinen Zweifel aufkommen.

Es ist noch einiger Analysen zu gedenken, bei welchen ein etwas höherer Kohlenstoffgehalt gefunden worden ist; diese betreffen die zuletzt auskrystallisierten Fraktionen, sie zeigen ein von den übrigen nicht zu unterscheidendes Verhalten, ergaben auch dieselben Spaltungsprodukte. Nachdem ermittelt war, daß das Scutellarin eine Säure ist, lag die Vermutung nahe, daß infolge des langen Kochens des Präparates in methylalkoholischer Lösung eine partielle Esterifizierung stattgefunden haben könnte. In der Tat erwies eine Methoxybestimmung die Richtigkeit unserer Annahme. Obwohl schon früher durch Goldschmiedt Scutellarin auf eventuellen

Methoxylgehalt geprüft worden war, haben wir doch das Rohprodukt, ehe es mit Alkohol in Berührung gekommen war, nochmals nach Zeisel behandelt; wir wendeten, um geringe Spuren von methoxylhaltigen Beimengungen sicher ermitteln zu können, eine große Menge Substanz (1·1 g) an und das Ergebnis war absolut negativ, so daß es keinem Zweifel unterliegen kann, daß in den an Kohlenstoff reicheren Fraktionen eine geringe Menge durch das lange Kochen mit Alkohol entstandenen Methylesters des Scutellarins enthalten gewesen ist.

Da, wie bereits mitgeteilt, das Scutellarin eine gepaarte Glucuronsäure ist, konnte übrigens der etwas höhere Kohlenstoffgehalt einzelner Fraktionen außer auf die nachgewiesene Methylierung vielleicht auch darauf zurückzuführen sein, daß sich zum kleinen Teile die Substanz anhydriert, d. h. in ein Glucuronderivat umgewandelt hat; sichere Anhaltspunkte hierfür konnten nicht gewonnen werden.

Der Umstand, daß sämtliche Fraktionen unseres Scutellarins dieselben Derivate und Spaltungsprodukte lieferten, berechtigt zu der Annahme, daß es homogen ist.

Wie alle gepaarten Glucuronsäuren ist auch das Scutellarin optisch negativ aktiv.

- I. Eine Lösung von 3·7936 g Substanz in 100 cm³ Wasser, dem die zur Lösung erforderliche Menge Pyridin zugesetzt war, zeigte im 1 dm-Rohr bei 18° eine Ablenkung von —5·31° im Mittel aus mehreren gut stimmenden Ablesungen.
- II. Eine Lösung von 2·2904 g Substanz in 100 cm³ desselben Lösungsmittels zeigte unter den gleichen Umständen eine Ablenkung von —3·20°.

Daraus berechnet sich das spezifische Drehungsvermögen:

$$[\alpha]_D^{18^\circ} \dots\dots \begin{matrix} \text{I} & \text{II} \\ -14\cdot0^\circ & -13\cdot97^\circ. \end{matrix}$$

Versuche zur Bestimmung der Acidität des Scutellarins. Scutellarin löst sich, wie bereits erwähnt, nicht nur in Alkalien und Alkalicarbonaten, sondern auch in Alkalisalzen anderer schwacher Säuren auf; die Lösungen in Alkalien werden rasch dunkel. Immerhin gelingt es, eine in Wasser suspendierte gewogene Menge der Verbindung mit $\frac{1}{10}$ normaler Alkalilösung annähernd zu titrieren. Als Indikator diente Phenol-

phthalein. Ein Vorversuch hatte uns gezeigt, daß eine erhebliche Menge der Alkalilösung zugesetzt werden muß, bevor die Rotfärbung erkennbar wird;¹ jedoch ist es notwendig, wegen der Färbung der Lösung etwas mehr Phenolphthalein zuzusetzen, als sich sonst empfehlen würde, worunter natürlich die Genauigkeit leidet. Es ergab sich bei der Titration, daß annähernd 2 Mol Kalilauge auf 1 Mol Scutellarin verbraucht wurden, ehe die Endreaktion eintritt. Bei der Rücktitration mit $\frac{1}{10}$ normaler Schwefelsäure (Indikator Methylorange) beginnt die Flüssigkeit erst dann sich vom ausgeschiedenen Scutellarin zu trüben, wenn die Hälfte des verbrauchten Alkalis neutralisiert ist; die Endreaktion tritt jedoch erst ein, wenn 2 Mol Säure zugesetzt sind. Dieses Verhalten erklärt sich durch die nahezu vollkommene Unlöslichkeit des Scutellarins in Wasser.

In Übereinstimmung mit diesem Verhalten steht auch das Ergebnis eines Versuches, Scutellarin mit Bariumcarbonat zu sättigen, wobei die Menge des zersetzten Carbonates durch Wägung des ausgetriebenen Kohlendioxyds ermittelt wurde. Wir haben uns dabei des Verfahrens bedient, das Goldschmiedt und Hemmelmayr² beschrieben und zur Bestimmung des Sättigungsvermögens des Scoparins in Anwendung gebracht haben:

Kocht man Scutellarin mit kohlendioxydfreiem Wasser und läßt durch den Hahntrichter des an der zitierten Stelle beschriebenen Apparates in kochendem Wasser aufgeschlämmtes Bariumcarbonat zufließen, so färbt sich die Flüssigkeit zuerst gelb, dann orange und es scheidet sich ein orangegelber Niederschlag des Bariumsalzes aus, der mit dem überschüssigen Bariumcarbonat vermischt ist. Derselbe färbt sich an der Luft rasch grün, ist aber unter Wasser, obwohl durch Natronkalk von Kohlendioxyd befreite Luft durchgeleitet wurde, beständig.

¹ Ein Parallelversuch mit Scutellarein ergab, daß schon nach Zusatz eines Tropfens der $\frac{1}{10}$ normalen Alkalilösung Rotfärbung eintritt.

² Monatshefte für Chemie, 14, 210 (1893), und H. Meyer, Anleitung zur quantitativen Bestimmung der organischen Atomgruppen, 2. Aufl., 1904, p. 49, ferner H. Meyer, Analyse und Konstitutionsermittlung organischer Verbindungen, 2. Aufl., 1909, p. 576.

0·9519 g getrocknete Substanz gaben 0·09178 g Kohlendioxyd.

In 100 Teilen:

	Gefunden	Berechnet für zwei ersetzbare Wasserstoffatome in $C_{21}H_{18}O_{12}$
Entwickeltes Kohlendioxyd	9·63	9·52
Durch Metall ersetzbarer Wasser- stoff	0·219	0·216

Die relative Beständigkeit des Bariumsalzes veranlaßte uns, seine Darstellung zu versuchen. Wir lösten Scutellarin in Wasser, dem die zur Lösung erforderliche Menge Pyridin zugesetzt war, und fällten dann mit einer Lösung von Bariumacetat; der sofort entstehende Niederschlag war orange-gelb, flockig und setzte sich bald ab. Er wurde abgesaugt und Washwasser immer zugefügt, ehe der Niederschlag trocken war, schließlich wurde auf dieselbe Weise das Washwasser durch Alkohol, dieser durch trockenen Äther verdrängt, schließlich trocken gesaugt. Hierauf wurde der Niederschlag sofort ins Vakuum über Schwefelsäure gebracht. Das so erhaltene gelbrote amorphe Pulver veränderte dann auch an der Luft seine Farbe nicht mehr. Bei der Analyse der bei 105° getrockneten Substanz zeigt sich, daß etwas weniger Barium gebunden war, als von der Formel $C_{21}H_{16}O_{12}$ Ba gefordert wird.

0·2400 g bei 105° getrockneter Substanz gaben 0·0871 g Bariumsulfat.

In 100 Teilen:

	Gefunden	Berechnet für $C_{20}H_{16}O_9 \left\langle \begin{array}{c} O \\ COO \end{array} \right\rangle Ba$
Ba	21·4	23·0

Das Gesamtergebnis dieser Versuche gestattet wohl den Schluß, daß an diesen Reaktionen eine Carboxylgruppe und ein Phenolhydroxyl beteiligt sind und daß man das Scutellarin als einbasische Carbonsäure zu betrachten habe; die Carboxylgruppe wird glatt neutralisiert, das Phenolhydroxyl langsam und, wie es scheint, unvollständig.

Esterifizierung. 2 g Scutellarin, bei 130° getrocknet, wurden mit zirka 1 kg absoluten Methylalkohols, der vorher mit zirka 50 g konzentrierter Schwefelsäure gemischt worden war, durch 11 Stunden unter Rückfluß gekocht; die Substanz

hatte sich bis auf Spuren, die abfiltriert wurden, gelöst. Aus der erkalteten Lösung fiel nichts aus, es wurde deshalb ungefähr die Hälfte des Holzgeistes abdestilliert und die klare Lösung einige Tage stehen gelassen. Die geringe krystallinische, intensiv gelb gefärbte Ausscheidung konnte durch Einstellen des Kolbens in Eis-Kochsalzgemisch vermehrt werden. Die abfiltrierte und mit kaltem Holzgeist gewaschene Substanz (*A*) erschien unter dem Mikroskop nicht vollkommen einheitlich; beim Erhitzen in der Kapillare wird die Substanz oberhalb 200° grau und mißfarbig, ohne daß bis 335° Schmelzen zu beobachten wäre.

Eine geringe Quantität dieser Substanz konnte noch durch Abkühlen des Filtrates in festem Kohlendioxyd erhalten werden. Nun wurde die Flüssigkeit mit Wasser verdünnt, wodurch eine nicht krystallisierte, flockige Substanz (*B*) von der Farbe des Goldschwefels gefällt wurde.

Die Substanz (*A*) zeigt noch die charakteristischen Reaktionen des Scutellarins mit α -Naphthol und konzentrierter Schwefelsäure sowie mit Barytwasser und Brom. Da Scutellarein erstere nicht gibt, so konnte wenigstens vollständige Hydrolyse des Scutellarins nicht erfolgt sein.

Auf eine weitere Reinigung der Substanz, die wegen der außerordentlichen Schwerlöslichkeit sowohl aller in Betracht kommenden Beimengungen als auch der Substanz selbst kaum durchführbar gewesen wäre, konnten wir um so eher verzichten, als es uns doch nur auf den Nachweis der Carboxylgruppe ankam.

0·2988 *g* Substanz, bei 100° getrocknet, gaben nach Zeisel 0·1859 *g* Jod-silber.

In 100 Teilen:

	Gefunden	Berechnet für $C_{20}H_{17}O_{10}COOCH_3$
OCH ₃	8·21	6·51

Die durch Wasser ausgefällte Partie (*B*) ergab nur einen ganz geringen Methoxylgehalt, 2·58%¹.

Acetylierung. Schon in der ersten Abhandlung über Scutellarin hat der eine von uns mitgeteilt, daß man beim

¹ Ein Parallelversuch mit Scutellarein, unter den genau gleichen Verhältnissen ausgeführt, ergab 0·6% OCH₃.

Kochen von Scutellarin mit Acetanhydrid und Natriumacetat ein blendend weißes Acetylprodukt erhält, dessen Schmelzpunkt bei 267° liegt; eine nähere Untersuchung konnte damals wegen Materialmangels nicht durchgeführt werden. Wir haben die Herstellung der Substanz wiederholt, und zwar jedesmal mit anderen Fraktionen unseres Scutellarins und sind, was ebenfalls für die Homogenität unseres Materials spricht, stets zu übereinstimmenden Resultaten gelangt.

Scutellarin wurde mit der gleichen Menge frisch getrockneten Natriumacetats und einem großen Überschuß von Acetanhydrid am aufsteigenden Kühler gekocht; die Substanz löst sich bald zu gelber bis roter Lösung, die noch etwa eine Stunde gekocht wird; nach dem Erkalten wird in Wasser gegossen. Nachdem das Anhydrid sich gelöst hatte, wurde der ausgeschiedene, in der Lösung gelatinös erscheinende, aber aus sehr kleinen Nadelchen bestehende, weiße Niederschlag abgesaugt, mit kaltem Wasser gewaschen und bei 100° getrocknet. Bei mehreren kontrollierten Darstellungen aus verschiedenen Fraktionen unseres Scutellarins betrug die Ausbeute 120% des angewandten Scutellarins.

Das Rohprodukt wird mit einer zur Lösung unzureichenden Menge Essigesters ausgekocht. Das Ungelöste schmilzt bei 255 bis 259° , nach nochmaligem Auskochen mit Essigester bei 263 bis 265° unter Zersetzung, die aus der Lösung durch Abdestillieren des Essigesters zur Ausscheidung kommende Substanz bei 255° und es konnte der Schmelzpunkt, beziehungsweise Zersetzungspunkt durch nochmaliges Umkrystallisieren noch in die Höhe gebracht werden. Die Präparate sind weiß, hie und da haben sie einen Stich ins Graue, nie aber ins Gelbe.

Die Substanz ist in Alkohol und Essigester ziemlich schwer, in Eisessig und Essigsäureanhydrid leicht löslich; sie fällt jedoch aus letzteren Lösungsmitteln oft nicht krystallinisch heraus. Sie löst sich in kalter Lauge nicht, beim Kochen nur langsam und unter Gelbfärbung der Lösung. Sie zeigt die grüne Naphtholreaktion; die rote Barytreaktion tritt erst beim Erwärmen ein.

Der Versuch, Scutellarin durch Auflösen in Acetanhydrid und Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure, die mit Acet-

anhydrid vermischt war, zu acetylieren, führte zu einer weißen gelatinösen Substanz, welche durch entsprechende Behandlung dasselbe Produkt ergab wie die früher benutzte Methode, die entschieden vorteilhafter ist. Zu bemerken ist, daß die hellgelbe Lösung von Scutellarin in Essigsäureanhydrid auf Zusatz von Schwefelsäure eine prachtvolle blaue Fluoreszenz annimmt.

Die Analysen wurden mit Präparaten verschiedener Darstellung ausgeführt:

- I. 0·1925 g Substanz gaben 0·3982 g Kohlendioxyd und 0·0662 g Wasser.
- II. 0·6758 g Substanz, nach Liebermann, jedoch mit verdünnterer (zirka 20prozentiger) Schwefelsäure verseift, gaben 0·4810 g Rückstand.
- III. 0·4733 g Substanz gaben, wie II behandelt, 0·3273 g Rückstand.
- IV. 0·2620 g Substanz verbrauchten, nach Wenzel bei 60 bis 65° verseift, 19·2 cm³ n/10 Natronlauge.
- V. 0·1396 g Substanz verbrauchten, nach Wenzel bei 100° verseift, 11·63 cm³ n/10 Natronlauge und 1·36 cm³ n/10 Jodlösung.

In 100 Teilen:

	Gefunden					Berechnet für
	I	II	III	IV	V	$C_{21}H_{11}O_{11}(C_2H_3O_5)_5$
C	56·41	—	—	—	—	56·88
H	3·82	—	—	—	—	3·97
C ₂ H ₃ O	—	32·4	34·4	31·52	31·7	32·9

Die bei der Verseifung nach Liebermann zurückgewonnene Substanz wurde, um die Überzeugung zu gewinnen, ob es, wie es den Anschein hatte, unverändertes Scutellarin sei, analysiert:

0·2076 g Substanz gaben 0·4217 g Kohlendioxyd und 0·0779 g Wasser.

In 100 Teilen:

	Gefunden	Berechnet für
		$C_{21}H_{18}O_{12}$
C	55·40 ¹	54·54
H	4·17	3·90

Aus den Analysen des Acetylproduktes berechnet sich eine Formel, welche dieses als Pentaacetylprodukt des Scutellarins erscheinen läßt, das ein Molekül Wasser verloren hat; es liegt

¹ Der etwas zu hoch gefundene Kohlenstoffgehalt ist wohl auf die Hydrolyse von einem geringen Teil des Scutellarins bei der Zerlegung des Acetylproduktes zurückzuführen; das Produkt dürfte infolge dessen eine kleine Menge Scutellarein enthalten haben.

nahe, zu vermuten, daß die Carboxylgruppe des Scutellarins mit einer Hydroxylgruppe ein Lacton gebildet hat, womit die Unlöslichkeit des Acetylproduktes in kalten Alkalien in Übereinstimmung steht. Hiernach wären in dem Pentaacetylscutellarin sämtliche Hydroxyle des laktonisierten Scutellarins acetyliert.

Einwirkung von Kalihydrat auf Scutellarin. In der wiederholt zitierten Arbeit wurde das Ergebnis dieser Reaktion mitgeteilt, die damals nur mit sehr kleiner Substanzmenge ausgeführt werden konnte. Hiernach ließ sich als Produkt der Zersetzung mit schmelzendem Kalihydrat mit vollster Sicherheit Paraoxybenzoesäure isolieren; außerdem wurde eine zweite Verbindung beobachtet, über deren Natur nichts Näheres ermittelt worden ist, schließlich fanden sich Andeutungen für das Vorhandensein »von Phloroglucin oder einem ihm nahestehenden Körper« durch den positiven Ausfall der Holzspanreaktion.

Wir haben nun die Einwirkung von Kalihydrat in milder Form studiert und sind hierbei zu einem Resultate gekommen, das für die Erkenntnis der Natur des Scutellarins von Wichtigkeit ist; wir teilen dasselbe im nachstehenden mit, obwohl uns die vollständige Aufklärung der Reaktion nach allen Richtungen bisher nicht gelungen ist; die neben dem Hauptprodukt entstehenden Substanzen scheinen sehr leicht zersetzbar zu sein und es wären sehr große Mengen Scutellarins erforderlich, um zur Untersuchung genügende Mengen davon zu gewinnen. Wir haben daher vorläufig auf die weitere Verfolgung der Reaktion Verzicht geleistet, weil uns das Studium der Hydrolyse des Scutellarins und seiner Spaltungsprodukte zunächst wünschenswert erschien. Wir werden aber auf den Gegenstand wieder zurückkommen, sobald ausreichende Quantitäten unseres Rohmaterials zur Verfügung stehen werden.

12 g Scutellarin wurden in 100 cm^3 25prozentiger Kalilauge gelöst und Sauerstoff durch die Lösung geleitet; von Zeit zu Zeit wurde geprüft, ob eine Probe beim Ansäuern noch einen Niederschlag gibt; nach vier Tagen war das nur mehr spurenweise der Fall, es wurde hierauf die Lösung mit Kohlendioxyd gesättigt, von der sehr geringen Ausscheidung filtriert und dann sechsmal mit Äther ausgeschüttelt. Nach dem

Abdestillieren des Äthers hinterbleibt ein geringer krystallisierter Rückstand, der ganz schwach den charakteristischen Geruch des Acetophenons gibt; derselbe ist in Wasser löslich, gibt mit Eisenchlorid eine schwach violette Farbenreaktion, die beim Verdünnen mit Alkohol verschwindet. Die aus Wasser umkrystallisierte Substanz schmilzt bei 108 bis 109°. Die Vermutung, daß es sich um *p*-Oxyacetophenon handelt, fand leicht ihre Bestätigung durch die Darstellung einer Reihe von Derivaten.

Wir führen unter I die an den von uns dargestellten Verbindungen beobachteten, unter II die für die entsprechenden Derivate des *p*-Oxyacetophenons in der Literatur verzeichneten Schmelzpunkte an:

	I	II
Phenylhydrazon	146°	148° ¹
Benzoat	132°	132° ²
Oxim	142—143°	143° ¹
Semicarbazon	197°	{ 197—198° ³ 199° ¹

Bei einem zweiten Versuche wurden 10 g Scutellarin mit einer Lösung von 25 g Ätzkali in 75 cm³ Wasser 2 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Die alkoholische Flüssigkeit roch auch hier schwach nach Acetophenon, sie wurde mit Salzsäure angesäuert und mit Äther wiederholt ausgeschüttelt. Der Ätherextrakt bestand im wesentlichen aus *p*-Oxyacetophenon.

In einem dritten Versuche wurden 10 g Scutellarin in 100 cm³ zehnpromzentiger Lauge unter Zusatz von Wasserstoff-superoxyd zersetzt; nachdem durch Säure keine Fällung mehr entstanden war, wurde in üblicher Weise verfahren und hierbei neben *p*-Oxyacetophenon auch *p*-Oxybenzoesäure unter den Reaktionsprodukten gefunden.

Auf die außerdem entstehenden Substanzen gehen wir nicht näher ein, es sei nur erwähnt, daß sich bei der Verarbeitung derselben einzelne Fraktionen fanden, welche mit

¹ Charon und Zamanos, C. r., 133, 743 (1901).

² Tauret, Bull. soc. chim., 11, 949 (1894).

³ A. G. Perkin, Journ. chem. soc., 71, 810 (1897).

Eisenchlorid eine ganz schwache grüne Färbung gaben, die auf sukzessiven Zusatz von sehr verdünntem Natriumcarbonat sich durch Blau und Violett schließlich rot färbten. Man muß daher wohl annehmen, daß Spuren von Protokatechusäure oder Brenzkatechin in denselben enthalten gewesen seien. Diese minimale Reaktion berechtigt aber nicht zur Annahme, daß dem Scutellarin ein Körper beigemischt sei, welcher zwei benachbarte Hydroxyle im Benzolkern trägt; die spurenweise Bildung eines solchen Körpers erklärt sich in anderer Weise durchaus befriedigend und überzeugend, worauf später noch zurückzukommen sein wird. Hingegen wird man es für wahrscheinlich halten müssen, daß eine sehr kleine Menge einer dem Scutellarin nahestehenden Substanz, der die Hydroxylgruppe des *p*-Oxyacetophenons, beziehungsweise der *p*-Oxybenzoesäure fehlt, in unserem Scutellarin enthalten sein dürfte, dem die Bildung des durch seinen Geruch sich verratenden Acetophenons zuzuschreiben ist. Die aus der Bildung von *p*-Oxyacetophenon abzuleitenden Schlußfolgerungen werden im Abschnitt Scutellarein erörtert werden.

Hydrolyse des Scutellarins.

Goldschmiedt hat seinerzeit gezeigt, daß bei der Hydrolyse des Scutellarins ein Körper entsteht, dem die Zusammensetzung $C_{15}H_{10}O_6$ zukommt und den er Scutellarein nannte. Das zweite Produkt der Hydrolyse ist damals seiner Natur nach nicht ermittelt worden. Die Spaltung des Scutellarins erfolgt nur unter Anwendung energischer Mittel. Schon früher war festgestellt worden, daß neun- bis zehnstündiges Erwärmen auf dem Wasserbade mit verdünnter Schwefelsäure (1:700), in dem Verhältnis, das Herzig¹ die quantitative Spaltung des Quercitrins ermöglichte, hier ganz wirkungslos ist; auch zehnprozentige Schwefelsäure führte trotz stundenlangem Kochen nicht zum Ziel; hingegen konnte das Scutellarein durch längeres Kochen von Scutellarin mit 30- bis 40prozentiger Schwefelsäure oder durch Kochen einer Eisessiglösung desselben mit Schwefelsäure — im letzteren Falle als Sulfat — gewonnen werden;

¹ Monatshefte für Chemie, 6, 876 (1885).

auch Auflösen in konzentrierter Schwefelsäure und Eintragen der Lösung in Wasser führt zur Spaltung.

Es ist klar, daß diese Verfahren wenig Aussicht boten, das zweite Spaltungsprodukt intakt gewinnen zu können; wir haben deshalb noch eine Reihe von Versuchen unter wechselnden Bedingungen ausgeführt.

2 g Scutellarein wurden mit 100 *cm*³ fünfprozentiger Schwefelsäure im Autoklaven durch 4 Stunden auf 160° erhitzt; die Substanz war unverändert geblieben; es wurde hierauf durch 7 Stunden auf 190° erhitzt; das Scutellarin hatte sich zum Teil dunkel gefärbt, war aber kaum verändert; das abfiltrierte Produkt wog getrocknet 1·84 g. Als wir zur Hydrolyse Salzsäure verwendeten (zuerst 20-, dann 15prozentige), beobachteten wir, daß die Lösung Karamelgeruch angenommen hatte und daß sich huminartige Substanzen ausgeschieden hatten; wir konnten durch Abdestillieren eines Teiles der Lösung den sicheren Nachweis der Bildung von Furfurol durch Anilinacetatpapier und Phloroglucin erbringen. Obwohl wir wenig Hoffnung auf Erfolg hatten, haben wir doch im Hinblick auf die schönen Erfolge, die damit bei der Hydrolyse der Eiweißkörper erzielt worden sind, auch die Fluorwasserstoffsäure¹ in die Versuche einbezogen. Scutellarin wurde 11 Stunden mit Flußsäure im Bleikolben mit Bleistopfen und -kühler gekocht; es blieb jedoch unangegriffen.

Nach diesen Erfahrungen schien es beinahe aussichtslos, das neben dem Scutellarein entstehende Produkt überhaupt zu gewinnen, und es blieb nur zu hoffen, daß es vielleicht dann gelingen werde, wenn man zwar brutale Mittel anwendete, diese aber möglichst kurze Zeit wirken ließe.

Auf Grund dieser Überlegung haben wir schließlich nachstehendes Verfahren benützt und sind dabei doch so weit erfolgreich gewesen, daß uns die Identifizierung der Substanz mit vollkommener Sicherheit gelungen ist.

Je 5 g Scutellarin wurden mit 100 g Wasser fein verrieben und in einem schmalen und hohen Becherglas mittels eines durch einen Elektromotor betriebenen, sehr schnell rotierenden

¹ Hugounenq und Morel, C. r., 146, 1291 (1908).

Witt'schen Rührers in Schwebelage erhalten, dann wurde konzentrierte Schwefelsäure zugegossen, bis die suspendierte Substanz gelöst war, und hierauf die Flüssigkeit möglichst rasch in $\frac{1}{2}$ l kalten Wassers gegossen. Es ist zu bemerken, daß der klaren Lösung unmittelbar die Ausscheidung eines orangeroten Niederschlages folgt, wohl des Sulfates des Scutellareïns. Dies geschieht manchmal so rasch, daß der Moment der klaren Lösung nicht erkennbar, diese wohl auch nicht vollständig erfolgt ist. In solchen Fällen übersteigt die Ausbeute an Scutellareïn den theoretischen Wert und das Resultat der Analyse zeigt, daß noch ungespaltenes Scutellarin vorhanden ist. Es ergibt sich dann die Notwendigkeit, mit solchen Produkten die Operation nochmals zu wiederholen, worauf dann stets für Scutellareïn stimmende Zahlen erhalten worden sind. Die Menge der bei den einzelnen Operationen für 5 g Scutellarin erforderlichen Schwefelsäure betrug durchschnittlich 230 g mit geringen Schwankungen nach oben und unten. Bei gut verlaufener Hydrolyse war die Ausbeute an Scutellareïn stets die theoretische. Wir haben für den ganzen Vorgang vom Augenblick des Eingießens der Schwefelsäure bis zum Eingießen der Lösung in Wasser 30 bis 40 Sekunden gebraucht. Karamelgeruch war wohl häufig, aber nicht immer wahrnehmbar. Auffallend ist, daß das beim Eingießen der schwefelsauren Flüssigkeit in Wasser zur Ausscheidung kommende Scutellareïn sehr oft unter dem Mikroskop vollkommen homogen krystallinisch erschien, manchmal aber aus gelben, dunklen, amorphen Flocken bestand, während nicht selten das mikroskopische Bild beide Formen nebeneinander aufwies. Durch Erwärmen des in der verdünnten Säure suspendierten Niederschlages auf dem Wasserbade wurden solche Präparate in der Regel krystallinisch. Wir haben schließlich diese Verhältnisse nicht weiter berücksichtigt, nachdem wir uns davon überzeugt hatten, daß sämtliche Partien, aus Holzgeist umkrystallisiert, reines, vollkommen krystallisiertes Scutellareïn liefern.

Die Filtrate vom Scutellareïn enthalten das zweite Spaltungsprodukt, die Glucuronsäure.

Scutellarein.

Das Scutellarein beginnt, im Kapillarrohr erhitzt, sich kurz vor 300° dunkel zu färben und wird bei noch höherem Erhitzen ganz schwarz, ohne daß bis 330° sicher Schmelzen oder Gasentwicklung beobachtet werden kann; wir hatten daher an diesem Verhalten keinen Anhaltspunkt für die Beurteilung der Reinheit des Materials. Überdies konnten wir feststellen, daß Proben, die im Kapillarröhrchen bis zur Schwärzung erhitzt worden waren, diese Veränderung nur an den dem Glase anliegenden Partien erfahren hatten, während die Substanz, wie sich beim Durchschneiden der Röhrchen zeigte, im Innern noch ganz hell gefärbt war; die Alkalität des Glases könnte hierbei eine Rolle spielen.

Wir sind deshalb genötigt gewesen, eine große Anzahl von Analysen auszuführen; hierzu dienten sowohl Präparate, die, unmittelbar bei der Hydrolyse gewonnen, nur gewaschen und getrocknet, als auch solche, die vorher aus Holzgeist oder Äthylalkohol umkrystallisiert worden waren. Da wir zur Hydrolyse verschiedene Fraktionen von Scutellarin verwendet haben und beinahe jede analysierte Probe von Scutellarein einer anderen Fraktion entstammte, ferner auch nacheinander aus derselben Lösung herausgefallene Partien analysiert worden waren, so ist die volle Übereinstimmung der Ergebnisse ein stringenter Beweis dafür, daß das gesamte aus der Pflanze gewonnene Material als das eine Spaltungsprodukt ausschließlich Scutellarein liefert, wenn man von der oben bereits erwähnten, nur durch den Geruch erkannten Bildung von Acetophenon bei der Kalispaltung absieht. Unsere Analysen führten zu der schon von Goldschmiedt ermittelten Molekularformel $C_{15}H_{10}O_6$.

Die Substanz wurde zur Analyse bei 100° getrocknet; auch hier ergab sich in manchen Fällen ein Aschegehalt, der bei der Berechnung von der angewendeten Substanzmenge abgezogen wurde.

- I. 0·1911 g Substanz gaben 0·4386 g Kohlendioxyd und 0·0576 g Wasser (Asche 0·0007 g).
- II. 0·2132 g Substanz gaben 0·4913 g Kohlendioxyd und 0·0654 g Wasser (Asche 0·0002 g).

- III. 0·2263 *g* Substanz gaben 0·5207 *g* Kohlendioxyd und 0·0706 *g* Wasser (Spur Asche).
 IV. 0·1945 *g* Substanz gaben 0·4441 *g* Kohlendioxyd und 0·0609 *g* Wasser (Spur Asche).
 V. 0·2065 *g* Substanz gaben 0·4759 *g* Kohlendioxyd und 0·0670 *g* Wasser (Spur Asche).
 VI. 0·1907 *g* Substanz gaben 0·4389 *g* Kohlendioxyd und 0·0630 *g* Wasser.
 VII. 0·1830 *g* > > 0·4223 *g* > > 0·0609 *g* >
 VIII. 0·2092 *g* > > 0·4794 *g* > > 0·0658 *g* >
 IX. 0·2284 *g* > > 0·5225 *g* > > 0·0744 *g* >
 X. 0·2131 *g* > > 0·4894 *g* > > 0·0784 *g* >
 XI. 0·2140 *g* > > 0·4943 *g* > > 0·0729 *g* >

In 100 Teilen:

	Gefunden					
	I	II	III	IV	V	VI
C	62·83	62·90	62·75	62·26	62·85	62·77
H	3·37	3·41	3·48	3·48	3·60	3·67

	Gefunden				
	VII	VIII	IX	X	XI
C	62·93	62·50	62·40	62·63	62·99
H	3·70	3·50	3·65	4·08	3·78

	Gefunden	Berechnet für
	im Mittel	$C_{15}H_{10}O_6$
C	62·80	62·93
H	3·61	3·42

Goldschmiedt hatte früher gefunden:

C	62·33
H	3·52

Das Scutellarein löst sich in kochendem Methyl- und Äthylalkohol leichter als Scutellarin; in den übrigen üblichen organischen Lösungsmitteln, mit Ausnahme des Eisessigs, ist es selbst bei Kochhitze sehr schwer löslich; in Wasser löst es sich spurenweise. Kalilauge löst leicht mit rotgelber, rasch nachdunkelnder, Natriumcarbonat mit gelber, bald grünlich werdender Farbe; auch Boraxlösung nimmt es leicht auf, wobei die Flüssigkeit bald dunkel wird; hingegen löst wässriges Natriumacetat auch beim Kochen nur Spuren. Wasser, dem etwas Pyridin zugesetzt ist, löst selbst beim Kochen

schlecht. Wird eine alkoholische Lösung mit wässrigem Bariumacetat versetzt, so entsteht ein rotgelber Niederschlag, der rasch grün wird.¹ Für das Scutellarin charakteristisch ist die zuerst von Molisch beobachtete Reaktion mit Barytwasser; Scutellarein verhält sich ähnlich, doch ist immerhin ein Unterschied festzustellen. Beim Befeuchten mit Barytwasser färben sich die Kryställchen auch rot, jedoch werden sie viel schneller grün, als das bei Scutellarin der Fall ist, manchmal so schnell, daß es schwer fällt, die vorausgehende Rotfärbung nicht zu übersehen. Eisenchlorid erzeugt in einer alkoholischen Lösung eine intensiv rotbraune Färbung, Bleiacetat einen roten Niederschlag; ammoniakalische Silberlösung, zur wässrig alkalischen Lösung des Scutellareins hinzugefügt, ruft eine dunkel rotbraune Färbung hervor; Reduktion erfolgt nur bei Anwesenheit von viel Alkali und beim Kochen, während Fehling'sche Lösung auch beim Erwärmen nicht reduziert wird. Die Reaktion, die das Scutellarin gegen α -Naphthol und konzentrierte Schwefelsäure zeigt, bleibt hier aus. Gegen Kongopapier reagiert das Scutellarein neutral.

Scutellarein färbt gebeizte Wolle kräftig an, und zwar mit

Chrom rotbraun,
 Tonerde braungelb,
 Zinn zitronengelb,
 Eisen olivgrün.

Eine Eisessiglösung von Scutellarein, kochend heiß mit Salzsäure, Bromwasserstoffsäure oder konzentrierter Schwefelsäure versetzt, scheidet tief gefärbte krystallinische Salze aus. Das Sulfat wurde analysiert; es erwies sich nach Zusammensetzung und Eigenschaften als identisch mit der Verbindung, welche Goldschmiedt bei der Hydrolyse des Scutellarins in Eisessiglösung mit Schwefelsäure erhalten hatte.

I. 0·5299 g Substanz gaben, mit Wasser zersetzt, 0·3955 g Scutellarein und 0·3108 g Bariumsulfat.

II. 1·0337 g Substanz gaben, mit Wasser zersetzt, 0·7657 g Scutellarein.

¹ Der unter gleichen Umständen aus Scutellarin erzeugte rote Niederschlag ist beständig.

In 100 Teilen:

	Gefunden		Berechnet für
	I	II	$C_{15}H_{10}O_6 \cdot H_2SO_4$
Scutellarein	74·65	74·07	74·48
H ₂ SO ₄	24·63	—	25·52

Kaliumverbindung. 1 g Scutellarein wurde in Alkohol kochend gelöst und eine alkoholische Lösung von 1 g Kaliumacetat zugesetzt; es entstand sofort ein gelbgrüner Niederschlag, auch die Lösung färbte sich grünlich. Es wurde über Nacht im verschlossenen Kolben stehen gelassen und dann filtriert. Der Niederschlag stellte unter dem Mikroskop kugelige, nur undeutlich krystallinische Aggregate dar, die in Wasser leicht löslich waren. Zur Analyse wurde die Substanz in Wasser gelöst, wobei rasch Dunkelfärbung eintrat, und mit Schwefelsäure versetzt; der rotbraune Niederschlag — bereits verändertes Scutellarein — wurde abfiltriert und im Filtrate das Kalium als Sulfat bestimmt.

0·9310 g im Vakuum getrockneter Substanz gaben 0·2558 g Kaliumsulfat.

In 100 Teilen:

	Gefunden	Berechnet für
	$C_{15}H_9O_6K$	
K	12·31	12·03

Einwirkung von Salpetersäure. Scutellarein wurde mit 14- bis 15prozentiger Salpetersäure 20 Minuten gekocht; nach dem Erkalten schieden sich nur Spuren fester Stoffe aus; die Lösung roch nach Blausäure.¹ Sie wurde im Vakuum konzentriert und über Schwefelsäure und Kalk zur Trockene gebracht. Im Rückstand war Pikrinsäure, Oxalsäure und eine gelbliche krystallisierte Säure enthalten, die zunächst bei zirka 220° unter Zersetzung schmolz, nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Wasser und Alkohol den Schmelzpunkt 245 bis bis 246° hatte und nur mehr einen schwachen Stich ins Gelbe zeigte. Die Säure ist hiernach so wie nach ihren sonstigen Eigenschaften als 3,5-Dinitro-*p*-Oxybenzoesäure anzusprechen.

¹ Seyewitz und Poigat, C. r., 148, p. 286. Bildung von Blausäure bei der Oxydation von Phenolen und Chinonen durch Salpetersäure.

Die Substanz färbte Woile wie Pikrinsäure und gab die Isopurpursäurereaktion. Wir haben die wässrige Lösung mit Bariumcarbonat kochend abgesättigt, filtriert und eingedunstet. Das Bariumsalz schießt aus verdünnten Lösungen in Gestalt langer, gelber, blätteriger Nadeln, aus konzentrierten in tiefroten Prismen aus.

0·2587 g bei 125° getrockneter Substanz gaben 0·1589 g Bariumsulfat.

In 100 Teilen:

	Gefunden	Berechnet für $C_7H_2N_2O_7Ba$
Ba	36·67	37·89

Dieselbe Säure wurde auch von A. G. Perkin bei der Oxydation des Apigenins mit Salpetersäure erhalten.¹

Acetylierung. Scutellarein wurde mit dem gleichen Gewichte geschmolzenen Natriumacetats und etwa dem zwanzigfachen an Acetanhydrid eine halbe Stunde zum Kochen erhitzt; die Lösung färbt sich dabei dunkelrot. Die erkaltete Flüssigkeit, die zu einem nahezu weißen Kuchen erstarrt war, wurde mit Wasser versetzt, stehen gelassen und nach einigen Stunden die etwas grau gefärbte Krystallmasse abgesaugt und gründlich gewaschen. Im trockenen Zustande erscheint die Substanz rein weiß; sie schmilzt als Rohprodukt bei 233 bis 234°, nach dem Umkrystallisieren aus Essigäther steigt der Schmelzpunkt auf 235 bis 237°. Die Ausbeute ist, wie sich nach Ausführung der Analyse, die ergab, daß vier Acetyle aufgenommen worden sind, feststellen ließ, quantitativ.

I. 0·2117 g Substanz, bei 100° getrocknet, gaben 0·4727 g Kohlendioxyd und 0·0752 g Wasser.

II. 0·9021 g Substanz gaben, nach Liebermann verseift, 0·5704 g Rückstand.

III. 0·5908 g Substanz gaben, nach Liebermann verseift, 0·3712 g Rückstand.

¹ Journ. chem. soc., 77, 416 (1900).

In 100 Teilen:

	Gefunden			Berechnet für
	I	II	III	$C_{15}H_6O_6 (OCOCH_3)_4$
C	60·9	—	—	60·8
H	3·95	—	—	3·96
CH ₃ CO.....	—	37·64	37·79	37·88

Die Analyse des durch Verseifung Gewonnenen zeigt, daß dasselbe unverändertes Scutellarein ist.

0·2030 g Substanz gaben 0·4418 g Kohlendioxyd und 0·0623 g Wasser (0·0004 g Asche).

In 100 Teilen:

	Gefunden	Berechnet für
		$C_{15}H_{10}O_6$
C	62·49	62·93
H	3·41	3·49

Methylierung des Scutellareins. Bei der Acetylierung hatte sich ergeben, daß das Molekül des Scutellareins vier Hydroxyle hat; es wurde nun die Methylierung mit Kaliumhydroxyd und Jodmethyl, mit Dimethylsulfat und auch mit Diazomethan studiert.

5 g Scutellarein wurden mit etwa 120 cm³ Holzgeist erwärmt, 5 g Kaliumhydroxyd, in Methylalkohol gelöst, und 15 g Jodmethyl hinzugefügt und unter Vorlage einer 10 cm hohen Quecksilbersäule gekocht; nach einiger Zeit wurde nochmals dieselbe Menge Kali und Jodmethyl zugesetzt und das noch ein drittesmal wiederholt. Nach siebenstündigem Kochen war die alkalische Reaktion verschwunden und es wurde nach Zusatz von 3 g Kalihydrat und 5 g Jodmethyl wieder bis zur Neutralität gekocht. Nach dem Erkalten wurde von geringer brauner, nicht krystallinischer Ausscheidung filtriert, die in Wasser löslich war und durch Säuren wieder ausgefällt werden konnte. Die klare, methylalkoholische Flüssigkeit wurde durch Destillation konzentriert und erkalten gelassen. Es hatte sich dann viel Jodkalium neben einem braunen Niederschlag abgeschieden, der sich wie die erste Ausscheidung verhielt, d. h. es ging beim Waschen auch ziemlich viel organische Substanz scheinbar kolloidal in Lösung und konnte durch

Änsäuern wieder als rotes, amorphes Pulver herausgefällt werden; am Filter blieb nur ein geringer hellgelber Niederschlag. Die alkoholische Mutterlauge wurde dann nahezu ganz abgedampft und der Rückstand mit Wasser versetzt, wodurch eine braune schmierige Masse abgeschieden wird, von der die wässrige Flüssigkeit abgegossen wurde. Der Rückstand wurde wiederholt mit Wasser, dann mit kaltem Alkohol durchgeknetet, der sich von aufgenommener Schmiere sehr dunkel färbt; ungelöst bleibt eine krystallinische Substanz, die noch braun gefärbt war, abgesaugt und mit Alkohol gewaschen den Schmelzpunkt 170° zeigte; durch Umkrystallisieren aus Holzgeist mit Tierkohle, dann aus Essigester wurde der Körper in Gestalt von hellgelben, glitzernden Blättchen erhalten, die den konstanten Schmelzpunkt von 189 bis 190° zeigten; die zweite Fraktion hatte denselben Schmelzpunkt. Die Ausbeute an dieser Verbindung war wenig befriedigend. Wir haben dieselbe Reaktion noch mehrmals unter Anwendung von mehr und weniger Jodmethyl und Ätzkali — auch in der Druckflasche bei 100° wurde operiert — wiederholt, ohne zu einem besseren Resultate zu kommen. Bei der in analoger Weise wie bei dem ersten Versuche durchgeführten Aufarbeitung der vereinigten Reaktionsprodukte konnten wir aus den letzten Mutterlauen noch einen zweiten Körper in geringer Menge gewinnen, der, unter Anwendung von Tierkohle aus verdünntem Holzgeist mehrfach umkrystallisiert, den konstanten Schmelzpunkt 158 bis 160° hatte. Wie später gezeigt wird, ist die erste Verbindung Trimethylscutellarein, die zweite Tetramethylscutellarein.

Das Verfahren, das kürzlich Herzig und Hofmann¹ zur vollkommenen Methylierung von Flavonolderivaten mit Erfolg benützt haben, hat uns bei dem allerdings nur einmal angestellten Versuche kein günstiges Resultat geliefert. Wir haben nach der Vorschrift der genannten Autoren mit einem großen Überschuß von Lauge und Dimethylsulfat (16 Mol in Partien zu je 4 Mol eingetragen) gearbeitet; da die entstandenen Produkte höchst unpraktikabel waren, wurde das Reaktions-

¹ Ber. 42, 155 (1909).

gemisch direkt der Kalispaltung unterworfen; als deren Produkte konnten Anisaldehyd (identifiziert durch das Phenylhydrazon), Anissäure und wenig *p*-Oxybenzoesäure mit Sicherheit ermittelt werden. Einige Fraktionen gaben die Holzspanreaktion in geringer Intensität.

Viel erfolgreicher ist die Methylierung mit Diazomethan in bezug auf Ausbeute, jedoch verläuft die Reaktion sehr langsam und ist recht kostspielig.

1 g Scutellarein wurde mit 50 cm^3 ätherischer Diazomethanlösung (aus 5 cm^3 Nitrosomethylurethan nach der Vorschrift v. Pechmann's hergestellt), d. i. zirka 1 Mol auf 5 bis 6 Mol, in einer gut schließenden Stöpselflasche übergossen. Die Stickstoffentwicklung beginnt sehr bald, ist aber wohl wegen der geringen Löslichkeit des Scutellareins in Äther nicht sehr lebhaft. Der Niederschlag wird allmählich voluminös, die Flüssigkeit färbt sich gelbbraun. Nach etwa 24 Stunden schien der Prozeß beendet; der Niederschlag war hellbraun, verhielt sich im Kapillarrohr wie unveränderte Substanz, hatte aber etwas Methyl aufgenommen. Es wurde hierauf so lange ätherische Diazomethanlösung zugegeben, als überhaupt, wenn auch sehr langsame Stickstoffentwicklung wahrnehmbar war. Die Flüssigkeit wurde häufig umgeschüttelt und der Niederschlag von Zeit zu Zeit mit einem dicken Glasstab verrieben. Nach mehr als 14 Tagen war eine weitere Reaktion nicht mehr konstatierbar. Nun wurde der nur wenig gefärbte Niederschlag abfiltriert und mit Äther gewaschen. Der Schmelzpunkt lag bei 181 bis 183°; die Ausbeute betrug zirka 65% des angewendeten Scutellareins. Die Substanz erwies sich nach entsprechender Reinigung, wobei der Schmelzpunkt auf 189 bis 190° steigt, als identisch mit dem durch Einwirkung von Jodmethyl erhaltenen Trimethylscutellarein. Das Tetramethylderivat entsteht, wenn überhaupt, so nur in sehr geringen Mengen.

Die bei Reinigung der Methylierungsprodukte erhaltenen Zwischenfraktionen, deren Schmelzpunkt zwischen 160 und 180° lag, konnten durch anhaltende Behandlung mit Lauge und Dimethylsulfat weiter ätherifiziert werden; doch ist es nötig, der Flüssigkeit etwas Alkohol zuzusetzen, da sich die Zwischenprodukte in wässrigem Kali nicht lösen. Die Neutrali-

sation geht Hand in Hand mit der Ausscheidung einer krystallisierten Substanz. Nachdem alles Dimethylsulfat zersetzt war, wurde von der noch alkalischen Flüssigkeit abfiltriert; der Niederschlag schmilzt bei 157 bis 158°. Aus dem Filtrate wird durch Verdünnen mit Wasser und Ansäuern noch etwas unreinere Substanz erhalten.

Die Zwischenprodukte sind demnach in Tetramethylscutellarein übergeführt worden, was durch die Schmelzpunkte der mehrfach umkrystallisierten Präparate und deren Mischschmelzpunkt mit dem früher erhaltenen Tetraäther bewiesen wurde.

Trimethylscutellarein. Die Substanz stellt sich, unter dem Mikroskope betrachtet, als vollkommen homogen, aus scheinbar rhombisch begrenzten Blättchen bestehend, dar. Sie ist hellgelb gefärbt und schmilzt bei 189 bis 190°¹; in wässrigen Alkalien ist die Substanz auch beim Kochen nur wenig löslich; aus der alkoholischen Lösung wird auf Zusatz von wenig wässrigem Alkali nichts ausgeschieden. Alkoholisches Kali löst in der Hitze den Trimethyläther auf, beim Erkalten scheidet sich das Salz als gelber krystallinischer Niederschlag aus; die alkoholisch-alkalische Lösung färbt sich, besonders beim Erwärmen, zuerst grün, dann gelb, schließlich braun.

Eisenchlorid reagiert nicht mit der alkoholischen Lösung, Bleiacetat färbt etwas dunkler gelb, Ätzbaryt und Bromwasser verhalten sich indifferent. Die Lösung in konzentrierter Schwefelsäure ist grünlichgelb.

- I. 0·1822 g Substanz gaben 0·4363 g Kohlendioxyd und 0·0804 g Wasser.
 II. 0·1776 g Substanz gaben nach Zeisel 0·3799 g Jodsilber.
 III. 0·2523 g » » » » 0·5222 g »
 IV. 0·2384 g » » » » 0·5037 g »

In 100 Teilen:

	Gefunden				Berechnet für $C_{15}H_7O_3 (OCH_3)_3$
	I	II	III	IV	
C	65·31	—	—	—	65·85
H	4·9	—	—	—	4·91
OCH ₃	—	28·24	27·32	27·89	28·36

¹ Quecksilberfaden ganz im Bade.

Die bei der Methoxylbestimmung zurückgewonnene Substanz war Scutellarein; bei der Acetylierung derselben entstand das oben beschriebene Acetylscutellarein vom Schmelzpunkt 235 bis 237°.

Acetyltrimethylscutellarein. Trimethylscutellarein wurde mit dem gleichen Gewicht geschmolzenen Natriumacetats und Acetanhydrids $1\frac{1}{4}$ Stunden gekocht, die Flüssigkeit nach dem Erkalten in Wasser gegossen; während sich das Anhydrid löst, scheiden sich weiße Krystalle aus, die nur ganz schwach gelbstichig sind. Nach dem Umkrystallisieren aus Essigester werden sie rein weiß und schmelzen unter vorangehendem Sintern bei 167 bis 169°¹; durch weiteres Umkrystallisieren wird der Schmelzpunkt nicht geändert. Die Kryställchen erscheinen unter dem Mikroskop als rhombisch begrenzte Blättchen.

Tetramethylscutellarein. Die Substanz besteht aus körnigen Kryställchen, die bisher nur etwas gelbstichig erhalten wurden. Der Schmelzpunkt liegt bei 158 bis 160°.¹

0·3223 g Substanz gaben nach Zeisel 0·8509 g Jodsilber.

In 100 Teilen:

	Gefunden	Berechnet für $C_{15}H_6O_2(OCH_3)_4$
OCH ₃	35·08	36·26

Eine unserer nächsten Aufgaben soll es sein, das Tetramethylderivat in so großen Mengen herzustellen, daß damit die Spaltung mit Alkalien ausgeführt werden kann. Von dieser Reaktion ist sichere Aufklärung über die Natur des bei der Zersetzung des Scutellareins entstehenden Körpers zu erwarten, der die Holzspanreaktion des Phloroglucins liefert.

Einwirkung von Kaliumhydroxyd. Das Verhalten des Scutellareins gegen schmelzendes Ätzkali ist von dem einen von uns früher durch einen Versuch mit nur 0·5 g studiert worden; es war die Bildung von Paraoxybenzoesäure neben »einem geringen, rötlich gefärbten, teilweise krystallinischen Rückstand, der die Phloroglucinreaktion mit großer Intensität

¹ Quecksilberfaden ganz im Bade.

gab«, festgestellt worden. Wir haben nun Ätzkali unter wechselnden Versuchsbedingungen auf Scutellarein einwirken lassen.

1. 6·5 g Scutellarein wurden mit 150 cm³ einer zwölfprozentigen Kalilauge am aufsteigenden Kühler gekocht, bis eine Probe, mit verdünnter Salzsäure angesäuert, nur mehr eine minimale Trübung gab, was nach 6¹/₂ Stunden der Fall war. Dann wurde mit Kohlendioxyd gesättigt und erschöpfend ausgeäthert. Die wässrige Lösung zeigte schwachen Geruch nach Acetophenon. Nach dem Abdestillieren des Äthers hinterblieb ein krystallinischer Rückstand (*A*), der die Holzspanreaktion des Phloroglucins nicht sehr intensiv gab. In der wässrigen Flüssigkeit hatte sich inzwischen ein gelber Niederschlag in geringer Menge abgeschieden, der abfiltriert wurde; die Substanz war in Äther nicht löslich und konnte leicht als nicht angegriffenes Scutellarein erkannt werden. Nun wurde mit Schwefelsäure angesäuert, von geringer sich abscheidender Schmiere durch Filtration getrennt und wieder erschöpfend ausgeäthert (Rückstand *B*). Die wässrige Flüssigkeit wurde hierauf mit Kalilauge genau neutralisiert und zur Trockene eingedampft (*C*).

A. Das Trockengewicht des Ätherrückstandes betrug etwas mehr als 2 g; er war in Wasser löslich und schied sich aus der heißen konzentrierten Lösung in Öltröpfchen aus, die nach Zusatz von wenig Alkohol in Lösung gingen; die aus der erkalteten Lösung ausgefallenen farblosen Krystallblätter schmolzen bei 107 bis 110°. Die wässrige Lösung färbt sich auf Zusatz von Eisenchlorid violett; der Mischschmelzpunkt mit *p*-Oxyacetophenon zeigt keine Depression. Die zweite Krystallisation bestand aus etwas weniger reinem *p*-Oxyacetophenon, die dritte Fraktion — eine äußerst geringe Menge — war größtenteils schmierig, sie gab die Holzspanreaktion mit großer Intensität.

B. Der Ätherrückstand aus saurer Lösung wurde in Wasser gelöst, von etwas Schmiere durch Filtration getrennt; durch Zusatz von Bleiacetatlösung wurde ein Niederschlag erhalten, der, abfiltriert, unter Wasser mit Schwefelwasserstoff zerlegt wurde; aus dem Filtrat wurde eine geringe Menge von Krystallen erhalten, die nach entsprechender Reinigung durch

Schmelzpunkt, Eisen-¹ und Bromreaktion, Zersetzung in Phenol und Kohlendioxyd beim Erhitzen zweifellos als Paraoxybenzoesäure erkannt wurden.

C. Es ist nicht gelungen, aus diesem Anteile des Reaktionsproduktes eine krystallinische Substanz zu gewinnen.

2. 5 g Scutellarein wurden mit 150 cm³ 25prozentiger Kalilauge durch 2 Stunden am Rückflußkühler gekocht; es entstand dann auf Zusatz von Säure zu einer Probe nur mehr geringe Trübung. Die alkalische Flüssigkeit, welche, wenn auch nicht stark, so doch unverkennbar nach Acetophenon roch, wurde im Wasserdampf destilliert, dann mit Schwefelsäure angesäuert, von etwas Schmiere filtriert und wiederholt mit Äther ausgeschüttelt. Das Wasserdampfdestillat, das nach Acetophenon roch, wurde ausgeäthert, der minimale, kaum sichtbare, ölige Ätherrückstand mit Alkohol aufgenommen und mit je einem Tropfen Phenylhydrazin und 50prozentiger Essigsäure versetzt; nach längerem Stehen hatten sich einige Nadelchen ausgeschieden, die wohl Acetophenonphenylhydrazon gewesen sein dürften, aber selbst zu einer Schmelzpunktbestimmung nicht hinreichten. Der Ätherrückstand enthielt im wesentlichen nur *p*-Oxyacetophenon, daneben aber auch eine Substanz, die die Phloroglucin-Holzreaktion deutlich zeigte. Die Reindarstellung des ersteren gelang auf dieselbe

¹ Über das Verhalten der Paraoxybenzoesäurelösungen gegen Eisenchlorid sagt der Entdecker der Säure Saytzeff (Liebig's Annalen, 127, 133 [1863]): »sie gibt damit einen gelben amorphen Niederschlag, der sich im Überschuß des Fällungsmittels wieder löst«. Barth hingegen sagt (Liebig's Annalen, 134, 27 [1865]): »sie gibt mit Eisenchlorid eine schwach gelblich-bräunliche Färbung«. In die meisten Handbücher (Beilstein, Meyer-Jakobson, H. Meyer, Analyse und Konstitutionsermittlung, Th. Weyl, Methoden der organischen Chemie) ist die Angabe Saytzeff's übergegangen, obwohl sie zweifellos falsch ist und die Barth'sche Beobachtung den tatsächlichen Verhältnissen entspricht.

Wenn man zu einer wässerigen Lösung von Paraoxybenzoesäure Eisenchloridlösung zufließen läßt, so kann man braune Schlieren (nicht Niederschlag) beobachten, die beim Schütteln natürlich verschwinden; die Lösung färbt sich gelblich-bräunlich, wie Barth beschreibt; auf weiteren Zusatz von Eisenchlorid nimmt die Farbenintensität zu, so daß die Flüssigkeit, bei Anwendung von kalt gesättigter Paraoxybenzoesäurelösung, dunkel rotbraun erscheint, wenn das Maximum erreicht ist.

Weise wie bei Versuch 1. Die zweite Substanz, die nur in sehr geringen Mengen vorhanden sein konnte, zu isolieren, gelang nicht.

3. 3 g Scutellarein und 130 cm^3 zwölfprozentiger Kalilauge wurden gekocht; Acetophenongeruch ist erkennbar. Der Kühler wurde umgekehrt und ein Teil des Wassers abdestilliert, dann wurde unter Rückfluß weiter gekocht, bis (nach 3 Stunden) Säure keine Fällung gab. Die alkalische Flüssigkeit roch nicht mehr nach Acetophenon, das vollständig ins Destillat übergegangen war. In diesem Falle konnte bei der Behandlung wie im Versuche 2 der Schmelzpunkt des Acetophenonphenylhydrazons gerade noch beobachtet werden; er lag bei 100° statt bei 105°, doch war die entstandene Menge dieses Körpers minimal. Auch bei diesem Versuche wurde *p*-Oxyacetophenon in beträchtlicher Ausbeute — etwas über 1 g Rohprodukt — isoliert und wieder eine kleine Quantität einer die Phloroglucinreaktion liefernden Substanz.

Schließlich wurden noch mit je 3 g Scutellarein zwei Kalischmelzen ausgeführt, das eine Mal 50 g Ätzkali und wenig Wasser angewendet, die Temperatur nicht über 210° gesteigert und nur kurze Zeit erhitzt; im zweiten Falle kamen 25 g Kaliumhydroxyd zur Anwendung, wurde höher erhitzt und die Einwirkung bis zur beginnenden Wasserstoffentwicklung fortgesetzt. Im ersten Versuch wurden in üblicher Weise wenig *p*-Oxyacetophenon neben *p*-Oxybenzoesäure, im zweiten nur die genannte Säure als Zersetzungsprodukt aufgefunden, in beiden Fällen aber war wieder die Substanz entstanden, welche die Holzspanreaktion gibt, ohne daß dieselbe faßbar gewesen wäre.

Wir haben uns bemüht, aus den bei sämtlichen Kalispaltungen erhaltenen Partien, welche die dem Phloroglucin eigentümliche Holzspanreaktion geben, die diese Reaktion veranlassende Verbindung zu isolieren. Zu diesem Zwecke wurden dieselben vereinigt in Wasser gelöst und die braune Lösung so lange mit Bleizucker versetzt, als der entstandene Niederschlag dunkel gefärbt war; die Fällung wurde beseitigt und das Filtrat mit Schwefelwasserstoff entbleit. Das Filtrat vom Schwefelblei wurde im Kohlendioxydstrome, zuletzt im Vakuum

eingedunstet und die konzentrierte, trotz aller Vorsichtsmaßregeln braun gewordene Lösung über Schwefelsäure ins Vakuum gestellt. Bald schieden sich haarfeine Kryställchen aus, die zusammenhängende Krusten auf der Oberfläche der Flüssigkeit bildeten. Der eingedunstete Rückstand gab die Holzspanreaktion nur mehr schwach, aber deutlich, so daß es den Anschein hatte, daß die Hauptmenge der Substanz mit dem Bleiniederschlag entfernt worden und daher leider verloren war. Der Schmelzpunkt der Substanz, von der nur eine geringe Menge vorgelegen und die gewiß noch nicht rein gewesen ist, lag bei zirka 140° . Die wässrige Lösung dieses Körpers zeigte auf Zusatz von Eisenchlorid zunächst einen ganz schwachen grünen Stich, der sofort verschwand und einer zwiebelroten Färbung Platz machte, die auch vergänglich ist; das Eisenchlorid wurde dabei reduziert. Bleizucker erzeugte nur eine schwache Trübung, keinen Niederschlag; Anilinchlorhydrat und Kaliumnitrit erzeugten — schon in äußerster Verdünnung, genau so wie bei Phloroglucin — zuerst Gelbfärbung, dann Niederschlag eines Benzolazoproduktes, der wohl rötlich ist, aber, wie wiederholte Parallelversuche ergaben, stets viel heller gefärbt ist als bei Phloroglucin. Kalilauge färbt Lösungen dieses Körpers kirschrot.

Wir sind leider nicht in der Lage, weitere Auskunft über diese Verbindung zu geben; ihr Verhalten erinnert in mancher Beziehung an das 1,3,4,5-Tetraoxybenzol Öttinger's,¹ ohne daß volle Übereinstimmung vorhanden wäre. Zunächst unterscheidet sich dieses Phenol nach Öttinger durch seine Fällbarkeit durch Bleizucker von der beschriebenen Substanz; übereinstimmend ist die Eisenreaktion und die Art, in welcher die Substanz sich aus wässriger Lösung ausscheidet. Da wir, wie aus nachstehendem hervorgeht, schwerwiegende Argumente dafür ins Feld führen können, daß dieses Tetraoxybenzol bei der Kalispaltung des Scutellareins entstehen dürfte, sind wir der Ansicht, daß die etwa der Zersetzung entgangene kleine Quantität dieses überaus unbeständigen Körpers sich größtenteils in dem leider verloren gegangenen Bleiniederschlag

¹ Monatshefte für Chemie, 16, 256 (1895).

befunden haben dürfte und daß in der in Rede stehenden Substanz vielleicht noch geringe Mengen davon enthalten sein könnten. Wir haben uns übrigens überzeugt, daß das Öttinger'sche Tetraoxybenzol, das wir in kleiner Menge bereitet haben, die Holzspanreaktion genau so wie Phloroglucin gibt, was Öttinger nicht angibt.

Die Untersuchung soll in dieser Richtung fortgesetzt werden.

Es ist bei der Besprechung der Einwirkung von Ätzkali auf Scutellarin gesagt worden, daß sich in einzelnen Partien der Spaltungsprodukte Andeutungen dafür ergaben, daß, wenn auch nur in sehr kleinen Spuren, Protokatechusäure oder Brenzkatechin vorhanden gewesen seien, die sich durch die grüne Reaktion mit Eisenchlorid verrieten. Wir haben auf diese Substanzen gewissenhaft auch unter den Zersetzungsprodukten des Scutellareïns gefahndet, ohne daß wir je nur die geringste Spur einer grünen Eisenreaktion hätten wahrnehmen können. Dieser Umstand schien uns die Berechtigung zu der Behauptung zu geben, daß die Protokatechusäure, beziehungsweise das Brenzkatechin ihre Entstehung nicht orthodihydroxylierten Verbindungen verdanken, welche, wenn auch nur in sehr kleiner Menge, unser Scutellareïn verunreinigen würden. Wir führen dieselbe vielmehr auf das zweite bei der sauren Hydrolyse entstandene Spaltungsprodukt des Scutellarins zurück — die Glucuronsäure —, welche, wie bereits Thierfelder¹ festgestellt hat, bei der Einwirkung von Ätzkali sowohl Protokatechusäure als auch Brenzkatechin entstehen läßt.

Die Struktur des Scutellareïns.

Schon das allgemeine Verhalten des Scutellareïns kennzeichnet diese Verbindung als einen Abkömmling des Flavons. Es ist den zahlreichen gelben Farbstoffen dieser Gruppe durchaus ähnlich, deren gründliches Studium und Aufklärung man den umfassenden und schönen Untersuchungen namentlich Herzig's, Kostanecki's und A. G. Perkin's verdankt und

¹ Zeitschrift für physiolog. Chemie, 13, 280 (1889).

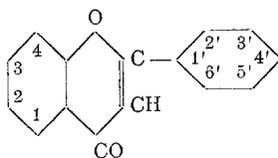
welche von Kostanecki und seinen Schülern zum großen Teile synthetisch dargestellt worden sind.

Es sprechen hierfür zunächst seine Farbstoffnatur, ferner die Eigenschaft, sowohl mit Säuren als auch mit Metallen Salze zu bilden, und insbesondere der Verlauf der Zersetzung durch Laugen. Der Umstand, daß bei der schonungsvollen Behandlung mit wässrigen Alkalien *p*-Oxyacetophenon glatt in nahezu quantitativer Ausbeute entsteht, gestattet den sicheren Schluß, daß das Scutellarein ein Flavonderivat im engeren Sinne sei; es kann kein Flavonol sein.

In Übereinstimmung hiermit steht, daß es resistent gegen Silber- und Fehling'sche Lösung ist, wenigstens konnten wir hierüber bei Flavonderivaten nirgends eine Angabe finden; nur von Apigenin heißt es ausdrücklich,¹ daß es nicht reduziert; bei den Flavonolen hingegen wird in der Regel deren Reduktionsvermögen hervorgehoben.

Durch die Darstellung eines Tetraacetylproduktes ist erwiesen, daß vier Hydroxylgruppen in dem Molekül enthalten sind. Von diesen lassen sich drei verhältnismäßig leicht, die vierte nur schwer methylieren. Nimmt man noch hinzu, daß das zweite Spaltungsprodukt, das allerdings bisher nicht isoliert werden konnte, die Holzspanreaktion des Phloroglucins zeigt, so ist die Stellung dreier Hydroxylgruppen durch die beobachteten Tatsachen als sicher ermittelt anzusehen.

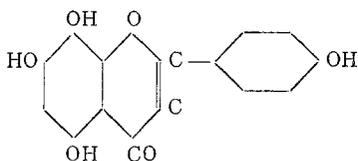
Legen wir der Betrachtung die üblichen Bezeichnungen zugrunde, so ergibt sich an der Hand der Strukturformel des Flavons nachstehendes:



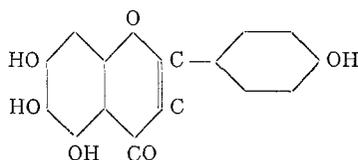
Ein Hydroxyl befindet sich in Stellung 4', denn es entsteht aus dem Scutellarein Paraoxybenzoesäure und *p*-Oxyacetophenon; ein zweites nimmt die Stellung 1 ein, denn es ist

¹ B., 9, 1124 (1876).

schwer methylierbar; das dritte muß die Stellung 3 haben wegen der Phloroglucinreaktion des zweiten Spaltungsproduktes. Da das vierte Hydroxyl weder in dem Benzol- noch in dem Pyronkern stehen kann, so bleibt für dasselbe nur die Wahl zwischen den Orten 2 und 4 und es ergeben sich daher zwei mögliche Formeln für das Scutellarein, zwischen welchen vorläufig auf Grund des experimentellen Materials die Entscheidung zu treffen nicht möglich ist.



oder



Das Scutellarein ist daher entweder 1,3,4,4'-Tetraoxyflavon oder 1,2,3,4'-Tetraoxyflavon.

Es sei bemerkt, daß das 1,2,3,5-Tetraoxybenzol Öttinger's,¹ das wir uns selbst hergestellt haben, die Holzspanreaktion in gleicher Art gibt wie das Phloroglucin und daß es sich auf Zusatz von Barytwasser zuerst rot, dann sehr rasch grün färbt; die Rotfärbung kann leicht übersehen werden, wenn man nicht scharf beobachtet. Bromwasser oder besser Bromdampf vertieft die grüne Farbe. Wenn man mit Wasser verdünnt, wird die Flüssigkeit violett. Kein anderes mehrwertiges Phenol zeigte, soweit uns solche zur Verfügung standen, ein ähnliches, an das des Scutellarins und insbesondere des Scutellareins erinnerndes Verhalten.

Vom Oxyhydrochinon stand uns ein käufliches, stark gefärbtes Präparat zu Gebote; dieses färbte sich mit Barythydrat intensiv violett. Pyrogallol zeigte schmutziggviolette,

¹ Monatshefte für Chemie 16, 256 (1895).

Phloroglucin fast keine Färbung, weder mit Bariumhydroxyd noch bei Zutritt von Bromdampf.

Glucuronsäure.

Die von der Hydrolyse des Scutellarins stammenden Flüssigkeitsmengen, die für je 5 g hydrolysierten Farbstoff durchschnittlich 230 g Schwefelsäure enthielten, mußten nun von dieser befreit werden. Dies geschah nach entsprechender Verdünnung mit Wasser durch reinstes Bariumcarbonat. Es waren daher auf rund 2 g des zu erwartenden löslichen Spaltungsproduktes 550 g Bariumsulfat zu erwarten. Wir haben je 5 l Flüssigkeit in einem Standzylinder durch ein mit Elektromotor angetriebenes Rührwerk in heftige Bewegung gebracht und partienweise in Wasser zu dickem Brei angerührtes Bariumcarbonat bis zur Neutralität eingetragen. Der Niederschlag setzte sich sehr gut¹ ab, die Flüssigkeit wurde dann abgehebert, filtriert, der Niederschlag auf einer großen Nutsche abgesaugt und mit lauem Wasser einmal gewaschen. Wir haben auf diese Weise mehr als 1 hl nahezu farbloser Filtrate erhalten, die neutral reagierten und nun bei 40° im Vakuum eingedampft wurden. Schließlich wurde, als nur mehr 200 cm³ übrig waren, von geringen Ausscheidungen durch Filtration getrennt und die Flüssigkeit über Schwefelsäure zur Trockene gebracht.

Der Rückstand war ganz fest, nicht krystallinisch, gelb gefärbt, schmeckte nicht süß und hinterließ auf dem Spatel viel Asche, die wir aber glaubten auf Verunreinigungen zurückführen zu müssen, welche durch die enormen Massen des erforderlichen Bariumcarbonates in die Lösung hineingebracht worden sein konnten. Die Lösung ist rechtsdrehend. Eine kleine Quantität der Substanz reduzierte ammoniakalische Silberlösung und Fehling'sche Lösung, sie gab die Böttger'sche Probe, die Pikraminsäurereaktion. Die Molisch'schen Zuckerproben mit Thymol und Naphthol,² ebenso die Probe mit Menthol und

¹ Dies ist nicht der Fall, wenn man zur Neutralisation Bariumhydroxyd verwendet.

² Es sei bemerkt, daß die Reaktion mit α -Naphthol und Schwefelsäure je nach Umständen die violette Färbung gab, wie sie die Zucker zeigen, oder die grüne, die dem Scutellarin eigentümlich ist. Dieses Verhalten fand seine befriedigende Aufklärung und wir kommen darauf im späteren noch zurück.

Campher fielen positiv aus; beim Kochen mit Kalilauge bräunt sich die Lösung der Substanz, wir mußten hiernach der Meinung sein, es läge ein mit Salzen verunreinigter Zucker vor.

Einwirkung von Phenylhydrazin. Wir versuchten daher sofort ein Osazon herzustellen: 2 g des Rückstandes wurden in 200 cm^3 Wasser gelöst, 4 g gereinigtes Phenylhydrazin und 10 cm^3 50prozentige Essigsäure zugesetzt und die Flüssigkeit auf dem kochenden Wasserbad erwärmt. Nach 2 bis 3 Minuten trübte sich die Flüssigkeit, nach 10 Minuten war eine beträchtliche Menge eines orangegelben Niederschlages entstanden, der abfiltriert und gewaschen wurde. Die Substanz erwies sich als sehr schwer löslich in Pyridin, das im wesentlichen nur wenig färbende Substanz aufnimmt. Das Unlösliche ist hell zitronengelb, unter dem Mikroskop erscheint es als aus kleinen Kugeln bestehend, von zumindest zweifelhafter krystallinischer Beschaffenheit. Versetzt man die Pyridinlösung mit viel Benzol, so scheidet sich noch etwas von der Substanz aus; der Zersetzungspunkt liegt bei 192 bis 195°.

Bei der Analyse stellte sich heraus, daß 22% der eingewogenen Substanz als Bariumcarbonat im Schiffchen zurückgeblieben waren, so daß es nicht zu bezweifeln war, daß die Verbindung das Osazon eines Bariumsalzes ist, das durch verdünnte Essigsäure nicht zersetzt wird.

0·1552 g Substanz gaben 0·2744 g Kohlendioxyd, 0·0684 g Wasser und 0·0340 g Bariumcarbonat.

In 100 Teilen:

	Gefunden	Berechnet für $C_5H_7O_8 (= N \cdot NHC_6H_5)_2$ COO Ba
C	49·57	49·12
H	4·89	4·32
Ba	15·24	15·63

Die Analyse stimmt ziemlich gut auf das Bariumsalz des Phenylsazons einer Säure $C_6H_{10}O_7$, welches die Formel der Glucuronsäure ist. Neuberg und Neimann¹

¹ Zeitschrift für physiolog. Chemie, 44, 112 (1905).

haben deren Bariumsalz aus dem von ihnen dargestellten Phenylsazon der Glucuronsäure bereitet, aber nicht analysiert.

Die Substanz gibt mit α -Naphthol und Schwefelsäure die schöne und empfindliche smaragdgrüne Reaktion, welche auch das Scutellarin gibt. Es war nun unsere Aufgabe, die Vermutung, daß das zweite Spaltungsprodukt Glucuronsäure sei, auf ihre Richtigkeit zu prüfen.

Ein Teil unseres Bariumsalzes wurde nun in Wasser gelöst und durch verdünnte Schwefelsäure unter Vermeidung eines Überschusses zerlegt, dann wurde vom Bariumsulfat abfiltriert. Die Flüssigkeit wurde dann ausgeäthert, um zu sehen, ob eine in Äther lösliche Säure vorliegt; der Ätherrückstand bestand nur aus Spuren einer öligen Substanz.

Die vom gelösten Äther befreite Flüssigkeit (200 cm^3 aus etwa 3 g Bariumsalz) wurde mit $2\cdot5\text{ cm}^3$ reinen Phenylhydrazin und dem gleichen Volumen 50prozentiger Essigsäure versetzt, kurze Zeit am Wasserbad erwärmt, dann erkalten gelassen; es scheidet sich ein gelber Niederschlag, mikroskopische, feine, gelbe, zu Büscheln vereinigte Nadeln aus, die bei 117° unter Zersetzung schmelzen. Dem Filtrate wurde abermals die gleiche Menge Phenylhydrazin und 50prozentige Essigsäure zugesetzt, worauf abermals ein Niederschlag entstand, und dies noch mehrmals fortgesetzt.¹ Die Schmelzpunkte der einzelnen Fraktionen waren 117 , 125 , 118 , 110 , 110° ; sie sind übrigens wegen der stattfindenden Zersetzung nicht gut zu beobachten; die beiden letzten, tiefer schmelzenden Fraktionen waren dunkel gefärbt.

Die Substanz macht den Eindruck vollkommener Homogenität, sie hinterläßt keine Asche. Die ersten vier Fraktionen (Schmelzpunkt 117 bis 125°) wurden aus etwas Pyridin enthaltendem Wasser umkrystallisiert; die auskrystallisierte Substanz schmolz dann bei 123° unter Zersetzung. Man kann sie

¹ Der von Milrath im Prager Laboratorium festgestellten Tatsache (Monatshfte für Chemie, 29, 337 [1908]), daß Phenylhydrazin in einer siebenprozentigen Lösung von Essigsäure noch Acetylphenylhydrazin entstehen läßt, Rechnung tragend, wurde durch entsprechende Verdünnung mit Wasser dafür gesorgt, daß diese Essigsäurekonzentration während der ganzen Dauer des Versuches nicht überschritten werde.

auch aus reinem kochenden Wasser umkrystallisieren, aber dabei wird ein Teil zersetzt, der sich als dunkelbraune Schmiere abscheidet; filtriert man die heiße Lösung durch ein nasses Filter, so krystallisiert die Substanz beim Erkalten scheinbar unverändert aus, der Schmelzpunkt liegt bei 122° . Kocht man aber die wässrige Lösung anhaltend, so findet weitergehende Zersetzung statt und es entstehen Substanzen, die sich erst bei höherer Temperatur verflüssigen; einmal wurde 155° als Schmelztemperatur beobachtet.

Dieser Körper wurde wiederholt dargestellt; er entsteht, wenn auch sehr langsam, auch beim Stehen der mit Phenylhydrazin und Essigsäure versetzten Flüssigkeit in der Kälte.

Die Substanz löst sich in verdünnter Lauge, scheinbar unter teilweiser Zersetzung; Säurezusatz bewirkt wieder gelbe Ausscheidung, auch kalte Sodalösung nimmt sie, wenn auch langsam auf. Versetzt man die wässrige Lösung mit Barytwasser, so fällt eine gelbe Substanz aus, welche dem analysierten Bariumsalz durchaus ähnlich ist und denselben Zersetzungspunkt hat. Zu demselben Salze gelangt man auch durch Fällung der Lösung in mit etwas Pyridin versetztem Wasser; es bildet sich auch, wenn man die stark verdünnte essigsäure Lösung mit essigsäurem Barium versetzt.

Mit α -Naphthol und Schwefelsäure erhält man dieselbe grüne Färbung wie mit Scutellarin, mit einem geringen Stich ins Bräunliche, wohl durch das Phenylhydrazin verursacht.

- I. 0·3042 g Substanz gaben 0·6424 g Kohlendioxyd und 0·1247 g Wasser.
 II. 0·2011 g Substanz gaben 0·4276 g Kohlendioxyd.
 III. 0·2091 g Substanz gaben bei $t = 19^\circ$ und $B = 741\cdot1$ mm $28\cdot4$ cm³ feuchten Stickstoff.

	Gefunden			Berechnet für
	I	II	III	$C_5H_7O_3 (= N.NHC_6H_5)_2$ COOH
C	57·59	57·91	—	58·06
H	4·55	—	—	5·38
N	—	—	15·22	15·05

Die bei den Analysen ermittelten Zahlen stehen in Übereinstimmung mit jenen, die sich für das beschriebene Bariumsalz

ergeben hatten, und die Substanz muß demnach als das Osazon einer Säure $C_6H_{10}O_7$ angesehen werden.

Das aus der wässerigen Lösung durch Barytwasser gefällte Salz dieses Osazons wurde nach gründlichem Waschen mit sehr verdünnter Essigsäure und dann mit Wasser und nach dem Trocknen bei 100° analysiert.

0·2283 g Substanz gaben 0·0502 g Bariumcarbonat.

In 100 Teilen:

	Gefunden	Berechnet für $C_5H_7O_3 (= N \cdot NHC_6H_5)_2$
Ba	15·30	15·05

Durch dieses Ergebnis ist nachgewiesen, daß die Substanz mit dem Zersetzungsprodukt von 122° ein Osazon einer Säure $C_6H_{10}O_7$ ist, welche die gleiche Zusammensetzung mit der Glucuronsäure besitzt oder Glucuronsäure selbst ist.

Die Einwirkung von Phenylhydrazin auf Glucuronsäure und auf Glucuron ist schon wiederholt studiert worden:

Thierfelder¹ hat durch Einwirkung von Glucuronsäureanhydrid auf Phenylhydrazin keine brauchbaren Produkte erhalten können, hingegen aus den Alkalisalzen der Säure eine krystallinische Verbindung, die bei 114 bis 115° schmilzt, isoliert. Die Analysenresultate stimmten jedoch nicht auf das reine Osazon der Glucuronsäure, sondern auf eine Verbindung, die man sich durch Aneinanderlagerung je eines Moleküls dieses Osazons und seines Phenylhydrazinsalzes entstanden zu denken hat.

Gejer,² dessen Abhandlung uns nicht zugänglich war, hat, wie Paul Mayer³ ausführt, weder Analysen noch Schmelzpunkt seiner Hydrazinverbindung angegeben.

Hirschl⁴ erhielt aus glucuronsaurem Natrium eine bei 110 bis 114° schmelzende Verbindung, wenn er nur eine

¹ Zeitschrift für physiolog. Chemie, 11, 395 (1887).

² Wiener med. Presse, 30, 1686 (1889).

³ Zeitschrift für physiolog. Chemie, 29, 59 (1900).

⁴ Ebenda, 14, 383 (1890).

Viertelstunde auf dem Wasserbade erhitzte; bei halbstündigem Erhitzen wurde der Schmelzpunkt des Produktes bei 107 bis 108° beobachtet, nach einstündigem Erwärmen bei 150°. Er hat also ähnliche Beobachtungen gemacht wie wir. Analysen Hirschl's liegen nicht vor.

Mayer¹ erhielt je nach der Menge des angewandten Phenylhydrazins (1, 2 oder 3 Mol) Substanzen, die bei 104 bis 110°, bei 199 bis 205°, nach wiederholtem Umkrystallisieren bei 210 bis 217° und bei 159 bis 164°, sämtlich unter Zersetzung schmolzen. Die Zusammensetzung dieser Substanzen auf ein homogenes Derivat zurückzuführen, war nicht möglich.

Zuletzt haben sich Neuberg und Neimann² mit diesem Gegenstande befaßt; sie kamen zu dem Schlusse, daß es unmöglich ist, auf dem üblichen Wege der Osazondarstellung durch Erwärmen auf dem Wasserbade das Osazon der Glucuronsäure darzustellen, da es unzweifelhaft mit einer oder mehreren der zahlreichen möglichen Verbindungen der Glucuronsäure mit Phenylhydrazin gemischt ist. Bei Anwendung eines früher von Wohl und Neuberg³ empfohlenen Verfahrens zur Darstellung sehr empfindlicher Hydrazinverbindungen (Erwärmen im Brutschrank auf 40°) gelang es aber den genannten Forschern, eine Substanz zu gewinnen, die bei 200 bis 202° schmilzt und deren Analyse scharf der Zusammensetzung des Glucuronsäurephenylosazons entspricht; sie haben auch die saure Natur ihrer Verbindung dadurch festgestellt, daß sie mit Barythydrat und Bleiessig Fällungen der entsprechenden Salze erhielten.

Unsere Osazonsäure vom Schmelzpunkt 123° hat dieselbe Zusammensetzung wie die Osazonglucuronsäure von Neuberg und Neimann, die bei 200 bis 202° schmilzt, woraus der Schluß zu ziehen wäre, daß unser saures Spaltungsprodukt des Scutellarins nicht Glucuronsäure ist.

Diesen Schluß ohne weiteres zu ziehen, konnten wir uns nicht entschließen, weil wir uns inzwischen überzeugt hatten, daß reines Glucuron, das wir der Liebenswürdigkeit des Herrn

¹ L. c.

² Zeitschrift für physiolog. Chemie, 44, 111 (1908).

³ B., 33, 3108 (1900).

Prof. Hans Horst Meyer in Wien verdanken, in wässriger Lösung mit α -Naphthol und konzentrierter Schwefelsäure versetzt, dieselbe Farbenreaktion wie Scutellarin und wie die Salze unseres sauren Spaltungsproduktes gibt. Wir haben uns deshalb, da wir auf die Aufklärung der Diskrepanz zwischen unseren Beobachtungen an dem Osazon und jenen von Neuberg und Neimann vorläufig nicht eingehen wollten, bemüht, die Frage, ob das saure Spaltungsprodukt des Scutellarins Glucuronsäure ist, auf anderem Wege zur Entscheidung zu bringen.

Identifizierung der Glucuronsäure. Es ist bereits mitgeteilt worden, daß die Lösungen des aus dem Hydrolyseprodukte gewonnenen Bariumsalzes rechtsdrehend sind, daß sie ammoniakalische Silberlösung und Fehling'sche Lösung schon in der Kälte reduzieren.

Fällt man das Barium genau mit Kaliumsulfat aus, so kristallisiert die filtrierte Lösung beim Eindunsten im Exsikkator zum großen Teil aus;¹ daneben sind sirupöse Massen, die wahrscheinlich bei der Hydrolyse entstandene Reversionsprodukte sind, auf deren Bildung aus Glucuronsäure unter dem Einflusse selbst von verdünnter Schwefelsäure schon Neuberg² aufmerksam gemacht hat.

Die Lösung des Kaliumsalzes und wir können hinzufügen auch jene der freien Säure gibt mit Bleizucker einen Niederschlag; wenn dieser keine Fällung mehr erzeugt, gibt Bleiessig noch eine sehr starke weiße Fällung. Auch Barytwasser im Überschuß erzeugt einen Niederschlag.

Bei der Destillation mit Salzsäure ist die Bildung von Furfurol in sehr deutlicher Weise in der üblichen Art nachgewiesen worden.

Die allerdings nicht eindeutigen Farbenreaktionen mit Orcin und Phloroglucin fielen positiv aus. Auch die von B. Tollens³ empfohlene Reaktion auf Glucuronsäure mit Naphthoresorcin verlief bei unserem Präparate völlig übereinstimmend

¹ Glucuronsaures Kalium kann leicht im kristallisierten Zustand erhalten werden.

² B., 33, 3316 (1900).

³ B., 41, 1788 (1908).

auch bezüglich des Spektralbefundes. Nach Mandel und Neuberger¹ kommt aber diese Reaktion noch zahlreichen anderen Keton- und Aldehydsäuren zu, auch dem Allantoin und vielen anderen komplizierter gebauten Verbindungen, so daß ihr Zutreffen nicht als unbedingter Beweis dafür gelten kann, daß Glucuronsäure tatsächlich vorliege. Die Seliwannoff'sche Reaktion gibt, nach Ofner's² Vorschrift ausgeführt, unsere Säure nicht.

Neuberger³ hat eine Reaktion auf Glucuronsäure angegeben, die auf der Bildung einer Verbindung unaufgeklärter Struktur mit *p*-Bromphenylhydrazin beruht, deren Schmelzpunkt bei 236° liegt; die Substanz entsteht nach Neuberger⁴ aus der freien Glucuronsäure oder ihren Salzen in essigsaurer Lösung. Wir haben, genau der Vorschrift Neuberger's folgend, den Versuch mit einer Lösung unseres Kalisalzes ausgeführt; die Erscheinungen, die wir dabei beobachten konnten, stimmen in allen Details vollkommen mit den von dem genannten Forscher geschilderten überein. Wir erhielten so wie er, nach dem Auskochen mit Alkohol, eine leuchtend hellgelbe, krystallinische Masse, die aber stets Asche hinterließ; der Schmelzpunkt des Rohproduktes lag bei einem Versuche bei 210 bis 216°, also etwas höher als bei Neuberger,⁵ der 200 bis 216° fand, bei den übrigen etwas tiefer. Die Substanz ist in Pyridin-Alkoholgemisch linksdrehend, wie Neuberger's Verbindung.⁶

Obwohl das Verhalten unserer Säure eine nahezu vollkommene Übereinstimmung mit jenem der Glucuronsäure zeigt, wollten wir doch auf den Versuch nicht verzichten, wenn möglich aus unserem Reaktionsprodukte reines Glucuron zu gewinnen.

Zu diesem Zwecke haben wir den letzten Rest unseres Bariumsalzes genau nach der Vorschrift behandelt, welche

¹ Biochem. Zeitschrift, 13, 148 (1908).

² Monatshefte für Chemie, 25, 611 (1904).

³ B., 32, 2395 (1899).

⁴ B., 33, 3319 (1900) und Ergebnisse der Physiolog. III, 1. Abt., 392 (1904)

⁵ Zeitschrift für physiolog. Chemie, 29, 261 (1900).

⁶ B., 32, 3286 (1899).

Neuberg¹ bei der Darstellung dieses Körpers aus den Produkten der Hydrolyse der Euxanthinsäure vortreffliche Resultate ergeben hat.

Das Salz wurde in Wasser gelöst, mit einem kleinen Überschuß $\frac{1}{2}$ normaler Schwefelsäure zerlegt, das Bariumsulfat abfiltriert, die überschüssig zugesetzte Schwefelsäure mit etwas mehr als der erforderlichen Menge $\frac{1}{6}$ normalem Barythydrat ausgefällt und die Lösung im Vakuum bei 40° zum dünnen Sirup eingedampft; dieser wurde dann in die etwa fünffache Menge heißen Alkohols eingegossen, von dem ausgeschiedenen Bariumsalz und Reversionsprodukten durch Filtration getrennt und die alkoholische Lösung wieder im Vakuum zu Sirup eingedunstet. Schon über Nacht hatten sich Krystalle ausgeschieden, die unter dem Mikroskope die charakteristischen Formen des Glucurons zeigten. Nachdem eine größere Menge zur Ausscheidung gekommen war, wurde der Sirup auf die Tonplatte gebracht. Die Krystalle, auf frischer Tonplatte einige Male mit kaltem Wasser gewaschen, schmolzen dann unter Zersetzung bei 170° unter vorangehendem Sintern.

Nachdem die Substanz aus kochendem Essigester umkrystallisiert worden war, aus welchem sie in glashellen, farblosen Krystallen ausschied, schmolz sie bei 175°, zersetzte sich unmittelbar nach dem Schmelzen; genau gleich verhielt sich das von Herrn H. H. Meyer zur Verfügung gestellte Glucuron und auch das Gemisch der beiden Präparate verflüssigte sich bei derselben Temperatur.

Es kann somit, als mit absoluter Sicherheit festgestellt, erklärt werden, daß das Scutellarin bei der Hydrolyse neben Scutellarein als zweites Spaltungsprodukt Glucuronsäure liefert.

Die Glucuronsäure ist bis vor kurzem nur als Produkt des tierischen Stoffwechsels aufgefunden worden; sie ist ein normaler Bestandteil des tierischen Harnes, in welchem sie als »gepaarte Glucuronsäure« vorkommt. Noch vor kurzem hat

¹ B., 33, 3315 (1900).

Czapek¹ die Meinung ausgesprochen, »sie dürfte im Pflanzenreiche wahrscheinlich noch gefunden werden.« Euler² schreibt noch 1908: »Glucuronsäure ist ein natürliches, doch nicht in Pflanzen gefundenes Oxydationsprodukt der Glucose«. Witsoe und B. Tollens³ sprachen die Vermutung aus, es könnte Glucuronsäure in den Nebenprodukten der Hydrolyse von gewissen Tragantsorten enthalten sein, »doch wagen wir keine bestimmte Aussage«, sagen die Autoren. Der erste Fall, in welchem Glucuronsäure als Paarling in einem Pflanzenstoffe sichergestellt wurde, ist die Glycyrrhizinsäure,⁴ von welcher Tschirch und Cederberg⁵ sowie Tschirch und Gauchmann⁶ nachgewiesen haben, daß sie bei der Hydrolyse in ein Molekül Glycyrrhetinsäure und zwei Moleküle Glucuronsäure gespalten wird.

Die α -Naphtholreaktion.

Vor 24 Jahren hat Molisch⁷ zwei neue Zuckerreaktionen von hoher Empfindlichkeit entdeckt, die seither allgemein im Gebrauche stehen und in zahlreichen Fällen vortreffliche Dienste geleistet haben. Die eine, mit der wir uns zu beschäftigen haben, besteht bekanntlich in einer tief violetten Färbung mit einem Stich ins Purpurne, welche Zuckerlösungen mit alkoholischem α -Naphthol und konzentrierter Schwefelsäure gibt. Die Reaktion ist charakteristisch für Zucker und auch für

¹ Biochemie der Pflanzen, Gustav Fischer, I. Bd., 202 (1905).

² Grundlagen und Ergebnisse der Pflanzenchemie, I, 47.

³ B., 33, 142 (1900).

⁴ Wir möchten bei dieser Gelegenheit darauf aufmerksam machen, daß, während bekanntlich bisher nur linksdrehende gepaarte Glucuronsäuren beobachtet worden sind, die Glycyrrhizinsäure nach Tschirch und Gauchmann und nach Cederberg (Dissertation, Bern 1907) inaktiv befunden worden ist. Die aus der inaktiven Glycyrrhizinsäure abgespaltene Glucuronsäure lieferte aber das Neberg'sche *p*-Nitrophenylhydrazinderivat stark linksdrehend. Es dürfte schwer fallen, diese beiden Beobachtungen mit der Theorie in Einklang zu bringen.

⁵ Arch. der Pharm., 245, 97 (1907).

⁶ Ebenda, 246, 545 (1908).

⁷ Monatshefte für Chemie, 7, 198 (1886).

andere Kohlehydrate und für Glukoside anwendbar, da diese durch Schwefelsäure hydrolysiert werden.

Im vorstehenden und auch schon in der ersten Abhandlung Goldschmiedt's über das Scutellarin ist wiederholt gesagt worden, daß das Scutellarin mit dem genannten Reagens unter gleichen Umständen eine smaragdgrüne Färbung gibt. Die gleiche Reaktion zeigt auch das saure Spaltungsprodukt der Hydrolyse, das unzweifelhaft als Glucuronsäure erkannt worden ist, ferner dessen Salze und Derivate, so daß sie als spezifisches Erkennungsmittel für Glucuronsäure gelten kann.

Wir haben nun selbstverständlich auch Glucuronsäure aus Euxanthinsäure, diese selbst, Glucuron, Urochloralsäure, Phenylglucuronsäure der Reaktion unterworfen, Präparate, die uns freundlichst von den Herren Hans Horst Meyer in Wien, Wiechowski und v. Zeynek in Prag überlassen worden sind, wofür ihnen auch hier der Dank ausgesprochen sei. Alle diese Präparate gaben, in wenig Wasser gelöst, beziehungsweise suspendiert, mit zwei Tropfen 15prozentiger alkoholischer α -Naphthollösung und 4 bis 5 cm^3 konzentrierter Schwefelsäure versetzt, die grüne Reaktion, ohne daß besondere Vorsichtsmaßnahmen bei Ausführung des Versuches erforderlich gewesen wären; nicht so die Glycyrrhizinsäure; Herr Tschirch in Bern hatte die Güte, auf die Bitte des einen von uns eine kleine Probe des Kaliumsalzes dieser Säure zur Verfügung zu stellen. Das Präparat ist krystallinisch und nahezu farblos, Herr Prof. Tschirch schrieb aber, daß er »absolute Reinheit nicht garantieren könne«. Der eine von uns hat deshalb Herrn mag. pharm. Halla veranlaßt, Glycyrrhizinsäure aus dem käuflichen Glycyrrhizinum ammoniacale solub. nach der Vorschrift von Tschirch und Gauchmann darzustellen. Herr Halla stellte uns ein Präparat zur Verfügung, das krystallinisch und nahezu farblos war, sich im Kapillarröhrchen genau so verhielt, wie es von den wiederholt genannten Autoren angegeben wird. Auch dieses Präparat gab nicht ohneweiters die grüne Färbung mit α -Naphthol und Schwefelsäure, sondern nur eine rotbraune, nicht sehr intensiv gefärbte Lösung.

Und doch gelingt es auch hier, die Erscheinung eintreten zu lassen, wenn man einige Tropfen einer Lösung des glycyrr-

rhizinsauren Salzes mit ein bis zwei Tropfen der Naphthol-lösung versetzt und das Gemisch vorsichtig über konzentrierte Schwefelsäure schichtet. Läßt man ruhig stehen, so kann man nach kurzer Zeit unter der Trennungsfläche der beiden Flüssigkeitsschichten einen sehr deutlichen grünen Saum wahrnehmen, der mit der Zeit an Breite und Farbentiefe zunimmt. Nach etwa einer Stunde ruhigen Stehens kann man die beiden Schichten mischen und dann erhält man eine homogene, smaragdgrüne Lösung. Weniger leicht gelingt es, die Reaktion bei der freien Glycyrrhizinsäure zustande zu bringen, wohl weil diese, in Wasser suspendiert, auf Zusatz der alkoholischen Naphthol-lösung zu einem weichen Klumpen zusammenbackt. Es hat demnach den Anschein, daß das Spaltungsprodukt der Glycyrrhizinsäure, die Glycyrrhetinsäure, indem sie selbst mit konzentrierter Schwefelsäure dunkle Färbungen erzeugt, störend auf die neue Glucuronsäurereaktion wirkt.

Wir wollen nun auf die Ausführung der Reaktion näher eingehen: Eine Spur von Glucuron, in einigen Tropfen Wasser gelöst und mit zwei Tropfen 15prozentiger alkoholischer α -Naphthollösung versetzt, gibt auf Zusatz von 2 bis 3 cm^3 konzentrierter Schwefelsäure die oft erwähnte smaragdgrüne Lösung, die einen Stich ins Blaue hat, wenn die Wassermenge größer ist; stellt man die Probe mit viel Wasser an, so kann die Färbung entschieden blau bis violett und sogar rot sein. Dementsprechend kann man durch vorsichtigen Zusatz von Wasser zu der grünen Lösung allmählich alle diese Farben sukzessive hervortreten lassen. Durch Zusatz von Schwefelsäure zu den verdünnten Lösungen gelingt es, die grüne Färbung zu regenerieren. Dieses Verhalten erklärt es auch, warum wir bei den Lösungen unserer, bei der Hydrolyse des Scutellarins erhaltenen Glucuronsäure je nach Umständen violette oder grüne Lösungen erhalten haben.¹ Läßt man eine grüne Lösung längere Zeit in offenen Gefäßen stehen, so verändert sich ihre Farbe allmählich von der freien Oberfläche aus infolge von Wasseranziehung. Auch beim Erwärmen der grünen Schwefelsäurelösung wird dieselbe violett bis rot. Für den guten Ausfall der Probe ist

¹ Siehe die Fußnote auf p. 476.

es daher erforderlich, die Wassermenge nicht zu groß zu nehmen; selbst wenn man es mit verdünnten Lösungen zu tun hat, ist es vorteilhaft, nur ein kleines Volumen anzuwenden. Es ist selbstverständlich, daß wir uns die Überzeugung verschafft haben, daß die Probe nichts gemein hat mit der von Maquenne¹ entdeckten und auch von Bieler und Tollens² und Witsoe und Tollens³ studierten grünen Farbenreaktion, welche alkoholische Schwefelsäure allein mit Methylfurfufrol oder mit dieses liefernden Substanzen entstehen läßt.

Auch wäre es eigentlich überflüssig, ausdrücklich hervorzuheben, daß wir zu diesen Versuchen stets ganz reine, insbesondere salpetrigsäurefreie Schwefelsäure verwendet haben; denn darauf hat Neuberg⁴ schon vor langer Zeit aufmerksam gemacht, daß Kohlehydrate bei Gegenwart von salpetriger Säure die Probe von Molisch unter gleichzeitigem Entstehen eines hellgrünen Saumes an der Berührungsstelle der beiden Schichten geben. Wir haben uns übrigens überzeugt, daß α -Naphthol, auch ohne daß Kohlehydrate anwesend wären, mit Schwefelsäure, die salpetrige Säure oder Salpetersäure in extremster Verdünnung enthält, eine intensiv grün gefärbte Lösung gibt, so daß dieses Verhalten geradezu zum Nachweis dieser Säuren dienen kann.

Die Glucuronsäurereaktion ist auch bei Gegenwart nicht allzu großer Mengen von Zucker an dem grünen Ring an der Trennungsfläche der beiden Flüssigkeitsschichten erkennbar und sie gestattet auch den Nachweis von Glucuronsäure im Harn,⁵ worauf an anderer Stelle näher eingegangen werden soll.

Die Struktur des Scutellarins.

Durch die vorstehenden Darlegungen ist der Beweis erbracht worden, daß das Scutellarin eine glykosidartige Verbindung ist, die bei der Hydrolyse Scutellarein und Glucuron-

¹ C. r., 109, 57 (1889).

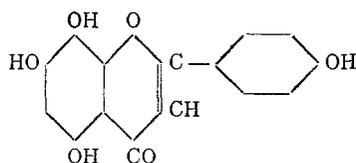
² Liebig's Ann., 258, 122 (1890).

³ B., 33, 145 (1900).

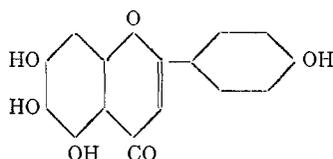
⁴ Zeitschrift für physiolog. Chemie, 31, 564 (1900).

⁵ Insoferne er frei von Nitrit und Nitrat ist.

säure liefert. Für die erstere hat sich aus der Untersuchung eine der beiden nachstehenden Formeln ergeben:

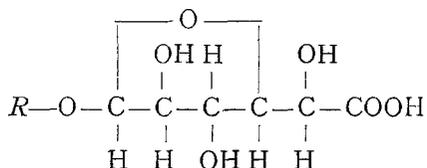


oder



Im Scutellarin muß daher eines der vier Hydroxyle des Scutellarins mit der Glucuronsäure in ätherartiger Verbindung stehen, die wahrscheinlich wie bei den Glucosiden und den anderen gepaarten Glucuronsäuren als Halbacetal aufzufassen ist.

Man kann also vorläufig die Struktur des Scutellarins durch die Formel



zum Ausdruck bringen, wo *R* den Rest des Scutellareïns bedeutet.

Auf unseren Wunsch hat Herr Prof. J. Pohl im pharmakologischen Institute der k. k. deutschen Universität einem Kaninchen im Laufe einiger Tage etwa 3 bis 4 g Scutellareïn per os beigebracht; wir erwarteten die im Organismus stattfindende Bildung von Scutellarin im Harne des Tieres nachweisen zu können. Herr Pohl, dem wir für seinen Beistand unseren Dank sagen, hat uns den Harn von mehreren der Fütterung folgenden Tagen zur Verfügung gestellt, doch gelang

es nicht, Scutellarin auch nur spurenweise in demselben aufzufinden.

Vor kurzem ist eine aus Molisch' Laboratorium hervorgegangene Untersuchung des Herrn stud. phil. Emil Strecker »Das Vorkommen des Scutellarins bei den Labiäten und seine Beziehung zum Lichte«¹ erschienen, zu der wir vom chemischen Standpunkte einige Bemerkungen machen möchten. Strecker hat mit großem Fleiß eine große Zahl von *Scutellaria*-Arten und von anderen Labiäten auf ihren Gehalt an Scutellarin geprüft und dabei auch dessen Verteilung in den verschiedenen Organen berücksichtigt; auch eine große Zahl von Pflanzen, die nicht zu den Labiäten gehören, wurde untersucht.

Es wurde festgestellt, daß Scutellarin in allen untersuchten *Scutellaria*-Arten, außerdem in anderen Labiäten, und zwar in Arten der Gattungen *Teucrium*, *Galeopsis* und *Thymus* vorkommt; in Pflanzen, die nicht zu den Labiäten gehören, konnte es nicht aufgefunden werden.

Zu diesen Feststellungen bediente sich Strecker der Reaktion, die Molisch aufgefunden hat, nämlich Behandlung mit Barytwasser, das bei Scutellarin rostrote Färbung der Kristalle erzeugt; an der Luft werden die Präparate allmählich, auf Zusatz von Chlor-, Brom- oder Jodwasser sofort dunkelgrün. Strecker hat gezeigt, daß eine Anzahl von Flavonfarbstoffen bei der gleichen Behandlung sich anders verhalten, und dies können wir auf Grund von Versuchen an den gleichen Substanzen, die ihm zur Verfügung standen, bestätigen. Trotzdem möchten wir glauben, daß die Schlußfolgerungen, die Strecker aus seinen Untersuchungen gezogen hat, möglicherweise zu weit gehende gewesen sein könnten, und gründen diese Meinung auf das Resultat unserer Untersuchungen.

Es ist klar, daß die Baryt-Bromwasserreaktion auf das im Scutellarinmolekül enthaltene Scutellarein zurückzuführen ist und daß die Glucuronsäure an derselben keinen Anteil hat. Man kann sie höchstens als Beweis dafür gelten lassen, daß ein Körper, welcher mit derselben positiv reagiert, ein Flavon-

¹ Sitzungsber. der kaiserl. Akad. der Wissensch., 1909.

derivat, vielleicht auch eine Verbindung anderer Struktur ist, welche einen Benzolkern mit Hydroxylgruppen in derselben relativen Stellung besitzt wie das Scutellarein, gibt ja sogar, wie oben ausgeführt worden ist, Öttinger's Tetraoxybenzol diese Reaktion. Bei der großen Mannigfaltigkeit der bereits bekannten natürlichen Farbstoffe aus der Gruppe der Flavone erscheint es also durchaus nicht ausgeschlossen, vielmehr wahrscheinlich, daß noch solche entdeckt werden, die im Benzolkern des Chromons dieselbe Zahl und dieselbe Verteilung der Hydroxyle haben könnten wie das Scutellarin, aber im übrigen Hydroxyle in größerer Zahl oder in anderer Stellung oder auch Methoxylgruppen. Solche Körper oder auch das Scutellarin selbst könnten anstatt mit Glucuronsäure mit irgendeinem Zucker glukosidartig verbunden sein und alle diese zahlreichen Möglichkeiten würden voraussichtlich Substanzen entsprechen, denen die Baryt-Bromwasserreaktion genau so eigentümlich sein würde wie dem Scutellarin.

Wenn es also immerhin nicht unwahrscheinlich sein mag, daß die von Strecker als scutellarinführend bezeichneten Pflanzen solches wirklich enthalten, so ist doch der überzeugende und sichere Beweis hierfür nicht erbracht worden.