

Über eine neue Bildungsweise der Glukuronsäure

von

Adolf Jolles in Wien.

(Vorgelegt in der Sitzung am 18. Mai 1911.)

Eine umfangreiche Literatur¹ zeugt von dem großen Interesse der physiologischen Chemiker für die Glukuronsäure. Diese gilt bekanntlich als ein intermediäres Stoffwechselprodukt des tierischen Körpers, das unter gewöhnlichen Umständen nur in sehr geringer Menge in Form »gepaarter Verbindungen« nachgewiesen werden kann. Sie tritt aber in größerem Maße im Harn auf, wenn sie durch Einführung verschiedener Substanzen in den Organismus, Glieder der aliphatischen und aromatischen Reihe, welche die Rolle eines Paarlings übernehmen, vor weiterer Oxydation geschützt wird.

In der Pflanzenwelt wird sie äußerst selten angetroffen.²

Während aber das Rätsel der Entstehung dieser Säure im tierischen Körper noch nicht gelöst ist, hat man längst ihre nahe Verwandtschaft zum Traubenzucker erkannt.

Die Ansicht, daß die Glukuronsäure hinsichtlich ihrer Konstitution zwischen Glukonsäure und Zuckersäure stehen müsse, hat schon Baeyer³ ausgesprochen und haben Fischer und Piloty⁴ durch die Synthese bestätigt, indem sie bekanntlich Glukuronsäure durch Reduktion des Zuckersäurelaktons mit Natriumamalgam in saurer Lösung darstellten. Es ist aber

¹ Vgl. E. v. Lippmann, *Chemie der Zuckerarten*, 1904, p. 360 ff.

² Vgl. Csapek, *Biochemie der Pflanzen*, 1905, I, p. 201, und Goldschmidt und Zerner, *Monatshefte für Chemie*, 1910 (XXXI), p. 439.

³ *Annalen der Chemie*, 155, 257.

⁴ *Ber.*, 4, 251.

bisher noch nicht sicher gelungen, Glukuronsäure durch Oxydation der Glukose zu erhalten, die nur um 1 Sauerstoffatom weniger und um 2 Wasserstoffatome mehr besitzt.

Neuberg,¹ der in neuerer Zeit zahlreiche Darstellungsweisen von Carbonylsäuren, welche der Glukuronsäure isomer oder homolog sind, aus Kohlehydraten aufgefunden hat,¹ beobachtete, daß bei der Oxydation des Traubenzuckers mit Salpetersäure ($s = 1.15$) auch eine Carbonylsäure der 6. Kohlenstoffreihe auftritt, die viel Ähnlichkeit mit der Glukuronsäure besitzt, konnte aber ihre Konstitution noch nicht feststellen. Ich habe in einer ausführlichen Arbeit über den Zerfall der Zuckerarten² berichtet, daß bei der Oxydation von Saccharose und Maltose in verdünnter, schwach alkalischer, beziehungsweise neutraler Lösung mit Wasserstoffsperoxyd bei 37° eine Säure entsteht, welche die Tollens'sche Reaktion mit Naphthoresorcin und die Bial'sche Orcinprobe liefert. Diese Reaktionen sind indes nicht eindeutig³ und ich habe ja auch bei der Oxydation der Arabinose das Auftreten einer Säure beobachtet, welche die oben erwähnten Reaktionen gab und nicht mit Glukuronsäure identisch sein konnte. Nur bei der Maltose gelang es mir damals, das Calciumsalz der Säure in genügender Menge darzustellen und zu analysieren. Der gefundene Wert stimmte mit dem für glukuronsaures Calcium berechneten gut überein, die Ermittlung der Konstitution mußte ich jedoch einer späteren Untersuchung vorbehalten.

Jetzt bin ich nun in der Lage, mitzuteilen, daß sich Glukuronsäure durch Oxydation von Glukose in verdünnter (zweiprozentiger) wässriger neutraler Lösung mit Wasserstoffsperoxyd bei 37° synthetisch gewinnen läßt.

Daß Glukuronsäure erhalten wird, habe ich durch die Darstellung des *p*-Bromphenylhydrazinderivates, dessen Eigenschaften mit den von Neuberg⁴ angegebenen sehr gut über-

¹ Biochem. Zeitschrift, 7, 527 (1908); 13, 305 (1908); 17, 270 (1909); 24, 440 (1910); 27, 227 (1910), und 28, 355 (1910).

² Biochem. Zeitschrift, 29, 152 (1910).

³ Neuberg, Biochem. Zeitschrift, 13, 148 (1908), und 24, 436 (1910).

⁴ Ber., 32, 2395, 3384, 3388.

einstimmen, und durch die Oxydation zu Zuckersäure bewiesen. Ferner gab die isolierte Säure die Reaktionen von Tollens, Bial und Goldschmiedt¹ und lieferte auch, nach Tollens mit Salzsäure ($s = 1.06$) destilliert, Furfurol.

Die Ausbeute ist allerdings keine gute zu nennen, was bei der geringen Widerstandskraft der Glukuronsäure gegenüber Oxydation und den Schwierigkeiten bei der Reindarstellung der Säure nicht verwunderlich ist. Sehr wichtig ist darum die genaue Einhaltung der angegebenen Bedingungen, da man sonst nur sehr wenig Glukuronsäure erhält.

Ich behalte mir aber weitere Versuche zur Erhöhung der Ausbeute vor.

Experimenteller Teil.

Allgemeiner Vorgang.

Die Darstellung der Glukuronsäure erfolgte nach zwei Methoden, von denen das Verfahren II empfehlenswerter erscheint.

I.

15 l einer zweiprozentigen Lösung chemisch reiner Dextrose (Kahlbaum) wurden in drei Flaschen zu 5 l verteilt, mit je 100 cm³ zwölfprozentigem (Volumprozent) H₂O₂ pro Flasche versetzt und 144 Stunden (6 Tage und 6 Nächte) bei 37° C. stehen gelassen. Nach je 24 Stunden wurde der Wasserstoff-superoxydzusatz erneuert.

Diese Versuchsbedingungen haben sich als die vorteilhaftesten herausgestellt. In mehreren Versuchen wurde nämlich der Verlauf der Oxydation mittels der Tollens'schen Reaktion mit Naphthoresorcin verfolgt. Die Färbung war bereits nach 72 Stunden intensiv und erreichte nach 144 Stunden ihr Maximum, indem sie bei längerer Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd zu verblassen begann.

¹ Zeitschrift für physiolog. Chemie, 65, 390.

² Zeitschrift für physiolog. Chemie, Bd. 56.

Nach 144 Stunden wurde nun die Lösung neutralisiert, das überschüssige Wasserstoffsperoxyd mit Platinmohr zerstört, die unveränderte Dextrose mit Hefe bei 37° vergoren und das Filtrat unter vermindertem Druck eingengt. Dann wurde Ammoniak und eine konzentrierte Lösung von Bleiessig zugesetzt. Das ausgefallene Bleisalz wurde gründlich mit Wasser von 70 bis 80° C. ausgewaschen, hierauf in 1½ l Wasser von 70 bis 80° C. suspendiert und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. H₂S wurde so lange eingeleitet, bis die Suspension auch nach zweistündigem Stehen noch deutlich nach Schwefelwasserstoff roch. Das Bleisulfid wurde abfiltriert und auf der Nutsche mit Wasser von 70 bis 80° gewaschen. Die vereinigten Filtrate (zirka 2 l) wurden unter vermindertem Druck bei 40° auf zirka 30 cm³ eingengt.

II.

15 l einer zweiprozentigen Lösung einer Dextrose (Kahlbaum) wurden bis zur Zerstörung des überschüssigen Wasserstoffsperoxyds durch Platinmohr genau so behandelt, wie bei I beschrieben. Alsdann wurde die Glukuronsäure durch basisches Bleiacetat gefällt, und zwar wurde Bleiessig so lange zugesetzt, als noch eine Fällung erfolgte. Durch fünfmaliges Dekantieren mit je 5 l destillierten Wassers wurde das Bleisalz gereinigt, wobei das Absetzen des Niederschlages jedesmal zirka 2 bis 4 Tage dauerte. Hierauf wurde der Niederschlag in zirka 1½ l Wasser suspendiert, auf 70 bis 80° C. erwärmt und zur Zerlegung des Bleisalzes Schwefelwasserstoff so lange eingeleitet, bis selbst nach zweistündigem Stehen die Suspension noch stark nach Schwefelwasserstoff roch. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit heißem Wasser (70 bis 80°) ausgewaschen und Filtrat samt Waschwasser (zirka 2 l) im Vakuum bei 40° C. bis auf zirka 30 cm³ eingengt.

Diese konzentrierte Lösung erwies sich als vollkommen frei von Dextrose.

Darstellung der Parabromphenylhydrazinverbindung.

Die nach Verfahren II erhaltene konzentrierte wässrige Lösung von Glukuronsäure diente zur Darstellung des *p*-Brom-

phenylhydrazinderivates nach der Vorschrift von C. Neuberg.¹ Verwendet wurde *p*-Bromphenylhydrazinchlorhydrat von Kahlbaum, das durch zweimaliges Umkrystallisieren aus verdünnter Salzsäure gereinigt wurde. Die wässrige Lösung der Glukuronsäure wurde zu einer Lösung von 5 g *p*-Bromphenylhydrazinchlorhydrat und 6 g Natriumacetat in heißem Wasser hinzugefügt und auf kochendem Wasserbade zirka 20 Minuten stehen gelassen. Die abgeschiedenen gelbbraunen Flocken wurden abfiltriert. Die Mutterlauge schied beim Stehen auf dem Wasserbade wieder Flocken ab. Diese wurden mit den ersten vereinigt und mit heißem Wasser ausgewaschen. Mit absolutem Alkohol digeriert, gewann das Produkt ein reineres Aussehen und schmolz, auf Ton abgepreßt, bei 200°. Nach dreimaligem Umkrystallisieren aus 60prozentigem Alkohol lag der Schmelzpunkt bei 229°.² Von einer weiteren Reinigung wurde mit Rücksicht auf die geringe zur Verfügung stehende Substanzmenge abgesehen.

0.170 g *p*-Bromphenylhydrazinderivat wurden in einer Mischung von 4 cm³ Pyridin und 6 cm³ Alkohol gelöst, so daß eine 1.7prozentige Lösung erhalten wurde. Diese zeigte im 100 mm-Rohr bei Natriumlicht im Halbschattenapparat

$$\alpha = -6.15^{\circ};$$

daraus berechnet sich

$$[\alpha]_D^{20} = -362^{\circ},$$

während Neuberg für das Parabromphenylhydrazinderivat der Glukuronsäure $[\alpha]_D^{20} = -369^{\circ}$ angibt. Da für eine Verbrennung die restliche Quantität des *p*-Bromphenylhydrazinderivates nicht ausreichte, so wurde nach dem beschriebenen Verfahren II neuerdings aus 15 l einer zweiprozentigen Dextrose-lösung Glukuronsäure dargestellt und in die Parabromphenylhydrazinverbindung übergeführt.

Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus 60prozentigem Alkohol lag der Schmelzpunkt bei 231°.

¹ Ber., 32, 2395 und 3384 bis 3388.

² Neuberg gibt 236° an.

Die Elementaranalyse ergab folgendes Resultat:

- I. 0·1562 g Substanz lieferten 0·2161 g CO₂ und 0·0648 g H₂O.
 II. 0·1604 g Substanz lieferten 10·1 cm³ N bei 20° und 757 mm.

In 100 Teilen:

	Gefunden	Berechnet für C ₁₂ H ₁₇ O ₇ N ₂ Br
C	37·53	37·78
H	4·64	4·49
N	7·21	7·37

Oxydation zur Zuckersäure.

10 cm³ der konzentrierten Lösung der nach Verfahren I gewonnenen Glukuronsäure, die unter sonst gleichen Umständen wie oben, aber aus 6000 cm³ einer zweiprozentigen Dextroselösung durch 336stündiges Stehenlassen bei 37° mit Wasserstoffsperoxyd und schließliches Einengen auf 20 cm³ unter vermindertem Druck erhalten worden war,¹ wurden mit 10 cm³ Wasser und 4 g Brom in ein Bombenrohr eingeschmolzen und 4 Stunden auf 100° erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde der Inhalt in einer Glasschale auf dem Wasserbad auf zirka 5 cm³ eingedampft, mit 20 cm³ Wasser verdünnt und abermal^s auf 5 cm³ eingedampft. Durch Zusatz von Bariumhydroxyd wurde das basische Bariumsalz der Zuckersäure dargestellt, abgesaugt und mit Bariumhydroxydlösung so lange gewaschen, bis im ablaufenden Waschwasser kein Halogen mehr nachweisbar war. Das basische Bariumsalz wurde mit konzentrierter Ammoncarbonatlösung versetzt, zirka eine Viertelstunde erhitzt und das klare Filtrat, das nun das Ammonsalz enthielt, auf dem Wasserbad auf zirka 10 cm³ eingedampft, mit Wasser verdünnt und wieder auf zirka 5 cm³ eingengt. Aus dieser konzentrierten Lösung schied konzentrierte Silbernitratlösung ein Silbersalz ab, das abfiltriert, mit

¹ Es sei ausdrücklich darauf hingewiesen, daß unter den beschriebenen Versuchsbedingungen das Auftreten von Zuckersäure nicht konstatiert werden konnte.

wenig Wasser und Alkohol ausgewaschen und im Vakuum über Schwefelsäure bis zur Gewichtskonstanz getrocknet wurde.

0·2158 g vakuumtrockene Substanz lieferten 0·1108 g metallisches Silber.

In 100 Teilen:

	Gefunden	Berechnet für $C_6H_8O_8Ag_2$
Ag	51·37	50·92