

Eigenschaften.

Die freie Säure ist leicht zersetzlich und läßt sich schwer oder nicht in reinem Zustande darstellen; sie zeigt in wässriger Lösung Linksdrehung; in solcher wird sie nur durch Bleiessig, Zinnchlorür, Quecksilberoxydulnitrat (nicht durch andere Metallsalze), gefällt. Verdünnte Essigsäure, wie Mineralsäuren geben keine Fällung; nur durch Zusatz von einem größeren Volumen Eisessig fällt die Säure in Flocken aus, die sich bei Wasserzusatz sofort wieder lösen. Aus Lösungen, die Eiweiß oder Leim enthalten, wird durch die Essigsäure (kein Überschuß) die oben erwähnte Verbindung ausgefällt.

Bei Gegenwart von Salzsäure zerfällt die Chondroitinschwefelsäure wie eine Ätherschwefelsäure in Schwefelsäure und in Chondroitin, eine einbasische Säure, das bei weiterem Erhitzen mit verdünnter Säure in Chondrosin gespalten wird, eine Fehlingsche Lösung stark reduzierende Substanz vom Charakter einer Aminosäure, die rechtsdrehend ist.

27. Nucleinsäure.

Nach K. A. H. Moerner findet sich Nucleinsäure ebenfalls in sehr kleinen Mengen im Harn; sie enthält etwa 10% Phosphor und ist frei von Schwefel. Sie läßt sich in ähnlicher Weise, wie die Chondroitinschwefelsäure abscheiden. Auch diese Säure gibt mit Eiweißkörpern bei dem Ansäuern mit Essigsäure Fällungen. Zum weiteren Nachweis der Nucleinsäure dient ihre Eigenschaft, durch Hydrolyse mit Mineralsäuren Phosphorsäure und Purinbasen abzuspalten.

Einen Teil der abgeschiedenen Nucleinsäure-Eiweißverbindung schmilzt man mit Soda und Salpeter und prüft in der salpetersauren Lösung mit molybdänsaurem Ammonium auf Phosphorsäure.

Zum Nachweis der Purinbasen wird nach Moerner der in der angegebenen Weise aus Harn erhaltene Niederschlag, die Eiweißverbindungen der Chondroitinschwefelsäure und der Nucleinsäure enthaltend, mit 0,1 normaler Schwefelsäure erhitzt, die neutralisierte Lösung mit Bleiessig gefällt, das im Überschuß zugesetzte Blei mit Schwefelwasserstoff entfernt und das Filtrat eingedampft. In diesem wird mit ammoniakalischer Silberlösung auf Purinbasen geprüft; ein entstandener Niederschlag wird nach dem Auswaschen in wenig Salpetersäure ($D = 1,1$) gelöst; beim Erkalten scheiden sich Nadeln aus. Außer der Phosphorsäure muß der Nachweis der Purinbasen erbracht sein, wenn man Nucleinsäure als vorhanden ansehen will.

28. Phenole. (Oxybenzole.)

Im Harn kommen regelmäßig aromatische Substanzen vor, die entweder unter normalen Verhältnissen bei der Darmfäulnis aus den Eiweißstoffen (durch bakterielle Zersetzung dieser) entstehen oder Benzolderivaten der Pflanzennahrung entstammen. Im vermehrten Zustande treten diese Stoffe auf, wenn die Bedingungen für die Wirkung der Fäulnisfermente besonders günstig sind, sowohl innerhalb des Darmes, als auch bei Fäulnisprozessen außerhalb des Darmes (z. B. bei eitrigen Geschwüren, Carcinomen usw.). Diese durch die geschilderten Prozesse gebildeten Stoffe, Phenol, Kresol (die drei isomeren Kresole), Brenzkatechin, Indol (Skatol), kommen nicht als solche im Harn vor, weil sonst der Organismus sehr bald großen Schaden nehmen müßte, da diese Stoffe für ihn Gifte sind. Die genannten Substanzen werden vielmehr vor ihrem Eintritte in den Organismus in der Leber (und

Niere) unschädlich gemacht, entgiftet, indem sie sich mit Schwefelsäure zu esterartigen Verbindungen zusammenschließen und als Phenyl-, Kresyl-, Brenzkatechin-, Indoxyl- und (Skatoxylschwefelsäure) den Organismus verlassen. Auch dem Körper direkt zugeführte Phenole erscheinen im Harn als Ätherschwefelsäuren und verursachen eine Vermehrung dieser auf Kosten der Sulfatschwefelsäure. (S. 86.)

Wie die Schwefelsäure wirkt auch noch die Glykuronsäure; im Gegensatze zum Indol soll sich nach A. Falk, E. Salkowski, C. Tollens Phenol vorzugsweise mit Glykuronsäure paaren; das Glykokoll verbindet sich dagegen mit nicht hydrolysierten aromatischen Säuren (Phenyllessigsäure).

Reicht die vorhandene Schwefelsäure nicht aus, um eine dem Körper zugeführte größere Menge Phenol in Phenolschwefelsäure zu verwandeln, so tritt ein Teil als freies Phenol, ein Teil in Form der Phenolglykuronsäure aus. Ein weiterer Teil des resorbierten Phenols kann auch zu Brenzkatechin und Hydrochinon verwandelt werden, die als ätherschwefelsaure Kalisalze den Organismus verlassen.

Diese Phenolschwefelsäuren sind nicht flüchtig und werden von Mineralsäuren in ihre betreffenden Phenole und in Schwefelsäure zerlegt. Die Bestimmung des Phenols läuft nach diesem Gesagten also mit der Bestimmung der sogenannten gepaarten Schwefelsäure parallel, so daß die Ermittlung dieser beiden zu demselben Ergebnis führen wird.

Nach F. Sterns¹⁾ Versuchen gibt die Menge der Ätherschwefelsäure ein sicheres Maß für die Ausscheidung von aromatischen Substanzen, wenn es sich nicht um sehr große Mengen von solchen handelt, da sie nicht so unberechenbaren Schwankungen wie die Glykuronsäure unterliegt. Zur Beurteilung des Gesamtwertes der Ausscheidung aromatischer Substanzen im Urin muß man aber neben der Ätherschwefelsäure auch die Glykuronsäure bestimmen und die Summe beider Werte berücksichtigen, besonders wenn sehr viel aromatische Stoffe im Urin den Körper verlassen. Doch siehe S. 86.

A. Das Phenol. $C_6H_5.OH$.

Mit der Bezeichnung „Phenol“ ist im allgemeinen nicht das eigentliche Phenol gemeint, man versteht darunter eben die Gruppe der Phenole, die zusammen vorkommen, also das Parakresol, das Brenzkatechin, das Hydrochinon, das Phenol, von denen das erstere vorherrscht. Die Muttersubstanz der Phenole ist das Tyrosin.

Im Menschenharn sind nur geringe Mengen Phenol (in der Tagesmenge 0,017—0,051 g nach J. Munk, 0,06—0,08 g nach Strasser, 0,033 g im Durchschnitte nach C. Neuberg, 0,081—0,122 g nach Koßler-Penny), reichlichere nach Pflanzennahrung vorhanden. O. Folin und W. Denis fanden höhere Werte, bei Gesunden bis zu 0,3 g, bei Kranken bis zu 0,66 g Gesamtphenol in 24 Stunden im Harn, Siegfried und Zimmermann im Harn gesunder

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1910. 68. 52.

Studenten als Mittel in 9 Fällen 0,0446 g Phenole, davon 0,026 g Kresol und 0,0186 g Phenol in 1500 ccm. Das Phenol stammt aus dem Darne infolge von Eiweißfäulnis; vermehrt ist deshalb das Phenol bei Stauungen des Darminhaltes, namentlich in den unteren Teilen des Dünndarmes und des Dickdarmes, bei Diabetes (hier werden oft große Mengen beobachtet), überhaupt bei Krankheiten, die auf vermehrter Darmfäulnis beruhen, so bei Ileus, bei jauchiger Peritonitis, bei Magencarcinom, bei Darmtuberkulose, bei septischen Prozessen (Eiterungen), bei Empyem, auch nach Phosphorvergiftung (Blendermann).

Indicanreicher Harn enthält stets auch viel Phenol, phenolreicher ist aber nicht immer reich an Indican; es werden eben nicht alle Bakterien, die bei der Zersetzung von Eiweiß Indol bilden, auch Phenol geben.

Über den Abbau des Tyrosins durch *Bact. coli phenologenes* berichtet M. Rhein.¹⁾

Darstellung.

Das Phenol kann nicht direkt im Harne nachgewiesen, sondern muß erst aus der Phenolschwefelsäure (Phenolglykuronsäure) isoliert werden. Man destilliert Harn nach Zusatz von Schwefelsäure (der Harn soll 5% davon enthalten) oder Phosphorsäure so lange, bis das aus der Ätherschwefelsäure oder der Glykuronsäureverbindung abgespaltene Phenol überdestilliert ist und stellt mit dem Destillate, das man zweckmäßig zur Entfernung von Benzoesäure und Salicylsäure mit reinem kohlensaurem Natron neutralisiert und nochmals destilliert, die Reaktionen auf Phenol an. Um die gewonnenen Phenole (Kresole) von den genannten Säuren, die die Reaktionen stören würden, zu befreien und die Phenole in konzentrierterer Form zu erhalten, kann man auch das Destillat in der Kälte mit kohlensaurem Natron sättigen und dann wiederholt mit Äther ausschütteln; die Ätherlösungen läßt man bei gewöhnlicher Temperatur verdunsten.

Daß Harne, die auf Phenole geprüft werden sollen, nicht mit Thymol und dergl. konserviert sein dürfen, ist wohl selbstverständlich.

Eigenschaften.

Reines Phenol, eine schwache Säure, krystallisiert in Nadeln, die bei 42,5–43° schmelzen, ist in heißem Wasser, Alkohol, Äther löslich, schwer löslich in kaltem Wasser, leicht löslich in Lösungen der Alkalihydroxyde; Phenol verbindet sich in der Siedehitze mit kohlensauren Alkalien unter Bildung der entsprechenden Phenolate.

Qualitativer Nachweis.

1. Neutrale Eisenchloridlösung (nicht zu großer Überschuß, vorsichtig zusetzen!) gibt mit wässrigen Phenollösungen eine blauviolette Färbung. Es handelt sich um eine einfache Ferrisalzbildung.

¹⁾ Biochem. Zeitschr. 1918. 87. 123.

Beurteilung.

Ein größerer Überschuß an Eisenchlorid, das Vorhandensein von Salzsäure, Alkalien, viel Alkohol, Äther beeinträchtigen die Reaktion.

2. Versetzt man Phenollösung bis zur dauernden Gelbfärbung mit Bromwasser, so entsteht ein gelblich-weißer krystallinischer Niederschlag von Tribromphenolbrom, der in Natronlauge löslich ist und durch Salzsäure wieder, aber als Tribromphenol, in gelben Nadeln ausgeschieden wird. Dieser löst sich in Alkohol und Alkalien (H. Landolt).¹⁾

In Kresollösungen entstehen die Trübung und die Fällung langsamer.

3. Phenol gibt die Millonsche Reaktion, die man in verschiedener Weise vornehmen kann:

- a) 5—10 Tropfen vom Millonschen Reagens (s. d.) werden mit 5—10 ccm der Phenollösung (Destillat) gekocht; zu der heißen Flüssigkeit wird vorsichtig so lange Salpetersäure tropfenweise zugesetzt, bis der beim Kochen entstandene Niederschlag verschwunden ist. Die Flüssigkeit wird dabei sehr schön rot gefärbt (A. Almén).²⁾

Die rote Färbung scheint nach O. Dimroth³⁾ ein Derivat des o-Phenylenquecksilberoxyds darzustellen.

- b) Man kocht eine verdünnte Phenollösung mit einer möglichst neutralen Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd im Überschuß und gibt eine Lösung von salpetrigsaurem Kali hinzu; es entsteht eine schön dunkelrote Färbung und ein ebensolcher Niederschlag.
- c) Mit einer Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxydul, die eine Spur salpetriger Säure enthält, zum Kochen erhitzte Phenollösung färbt sich intensiv rot (Plugge).⁴⁾

Beurteilung.

Die Phenollösung darf nicht alkalisch reagieren, auch ist ein größerer Überschuß von Salpetersäure bei Probe a) zu vermeiden. Das Vorhandensein von viel Chlorionen schwächt die Reaktion.

4. Eine ammoniakalische Phenollösung färbt sich auf vorsichtigen Zusatz von unterchlorigsaurem Salz (Lösung von 1 Teil Chlorkalk: 20 Teilen Wasser) oder von Bromwasser grün, dann schön blau (Indophenol) (M. Berthelot).⁵⁾

Beurteilung.

Man sei mit dem Zusatze der Reagentien vorsichtig; die Flüssigkeit wird anfangs grün, dann schnell blau; durch gelindes Erwärmen wird die Reaktion beschleunigt. Bromwasser ist besser. Es muß noch unversetztes Ammoniak vorhanden sein.

5. Mit salpetriger Säure entwickelt das Phenol Stickstoff (U. Kreusler).

¹⁾ Berl. Bericht. 1871. 4. 770.

²⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 1878. 17. 107.

³⁾ Berl. Bericht. 1899. 32. 764; 1902. 35. 2856.

⁴⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 1872. II. 173.

⁵⁾ Chem. Centralbl. 1859. 463.

6. Eine Phenollösung gibt mit etwas Anilin und darauf mit unterchlorigsaurem Natrium oder Chlorkalklösung vermischt eine Blaufärbung (erythrocarbolsaures Natrium), die durch Säuren rot, durch Alkalien wieder blau wird (Polacci, E. Jacquemin).¹⁾
7. Man versetzt die wässrige Phenollösung mit einigen Körnchen Paroxybenzaldehyd (oder Salicylaldehyd) und dem gleichen Volumen konz. Schwefelsäure; es entsteht eine gelbe Lösung (Bildung von Aurin), die beim Übersättigen mit Alkali schön rosa gefärbt wird (Nencki und Sieber).²⁾
8. Mit Diazobenzolsulfosäure färbt sich das phenolhaltige Destillat in stark alkalischer Lösung orangegelb bis rot (F. Penzoldt u. E. Fischer³⁾).

Wahl der Methode.

Sämtliche Proben, besonders 2, sind empfindlich. Die Probe 2 wird man am besten zuerst anwenden, den positiven Ausfall aber noch durch eine der anderen Proben sicherstellen.

Man denke daran, daß nach Einnehmen von Guajacol, von Salicylsäurederivaten usw. die Proben positiv ausfallen können.

Quantitative Bestimmung.

Bei der Bestimmung von Phenol wird man sowohl Phenol, wie auch Parakresol zusammen bestimmen. Getrennte Bestimmungen von dem isolierten Phenol und Kresol haben M. Siegfried und R. Zimmermann (s. S. 365) vorgenommen.

1. Nach A. Koßler und E. Penny.⁴⁾

A. Koßler und E. Penny haben gefunden, daß die gewichtsanalytische Bestimmung des Phenols, besonders des Parakresols zu unrichtigen Ergebnissen führt, daß aber auch nach der ursprünglichen Methode von Koppeschaar das Phenol in Gegenwart von Kresol nicht mit hinreichender Genauigkeit bestimmt werden kann. Die Methode von J. Messinger und G. Vortmann⁵⁾ läßt sich mit gutem Erfolge benutzen.!

Prinzip.

Die isolierten, von störenden Stoffen befreiten Phenole, Phenol und Parakresol, werden durch unterjodigsaures Natrium unter bestimmten Bedingungen in Trijodkresol oder Trijodphenol übergeführt; für die vollständige Überführung des Phenols in Trijodphenol ergibt sich die Gegenwart von etwas über drei Molekülen unterjodigsaurem Natron auf ein Molekül Phenol und die Gegenwart von freiem Jod (5 cem $\frac{1}{10}$ n-Jodlösung); bei der titrimetrischen Bestimmung des Kresols erhält man gleiche Werte, wenn auf ein Molekül Kresol mehr als sieben Moleküle Hypojodit und mindestens 15 cem $\frac{1}{10}$ n-Jodlösung als freies Jod angewendet werden.

Erforderliche Lösungen.

1. $\frac{1}{10}$ n-Jodlösung. S. 119.
2. $\frac{1}{10}$ n-Thiosulfatlösung.
3. Nitritfreie $\frac{1}{10}$ n-Natronlauge. S. 53.
4. Stärkelösung.

¹⁾ Compt. rend. 76. 1605; Zeitschr. analyt. Chem. 1876. 15. 367.

²⁾ Journ. prakt. Chem. 1882. 26. 25.

³⁾ Berl. Bericht. 1883. 16. 657.

⁴⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1893. 17. 115.

⁵⁾ Berl. Bericht. 1890. 23. 2753.

Ausführung.

500 ccm Harn oder mehr werden bei schwach alkalischer Reaktion (Zusatz von Kalilauge) auf dem Wasserbade auf etwa 100 ccm eingedampft, um auf diese Weise etwa vorhandenes Aceton, Acetessigsäure, auch Ammoniak zu entfernen, da diese Stoffe ebenfalls Jod binden. Der konzentrierte Harn wird in einen passenden Destillationskolben übergeführt und mit so viel Schwefelsäure versetzt, daß die Flüssigkeit etwa 5% der ursprünglichen Harnmenge davon enthält; zur Verhinderung des Stoßens beim Kochen werden eine Platinspirale oder Siedesteinchen zugegeben; der Kolben wird mit einem absteigenden Kühler verbunden, hierauf wird destilliert. Wenn von dem Kolbeninhalte etwa die Hälfte abdestilliert ist (man hat noch Wasser dazugegeben, so daß der Inhalt ungefähr 400 ccm beträgt), verdünnt man den Rückstand im Kolben mit Wasser, indem man dieses einfach durch einen im Verschußstopfen des Kolbens befindlichen Tropftrichter einfließen läßt, und destilliert unter guter Kühlung von neuem; diese Destillation wiederholt man, immer unter Ergänzung des Rückstandes mit Wasser, noch einige Male.

Um salpetrige Säure und Ameisensäure aus den Destillaten zu entfernen, werden die 2—3 ersten Destillate gemeinsam, die anderen Portionen getrennt für sich mit Calcium- oder Magnesiumcarbonat versetzt, ordentlich durchgeschüttelt, bis die saure Reaktion verschwunden ist und abermals destilliert. Die einzelnen Destillate, besonders das zuerst aus den vereinigten Destillaten gewonnene, füllt man am besten, aber erst nach der im Nachstehenden von Neuberg empfohlenen noch weiteren Reinigung, zu einem bestimmten Volumen auf und verwendet einen abgemessenen Teil zur folgenden Bestimmung; diesen bringt man in eine mit einem gut eingeschliffenen Glasstöpsel verschließbare Flasche, setzt nitritfreie $\frac{1}{10}$ n-Natronlauge (20 ccm) bis zur ziemlich stark alkalischen Reaktion hinzu und taucht hierauf die Flasche in ein heißes Wasserbad, in dem man sie einige Zeit beläßt, so daß der Flascheninhalt etwa 60° warm ist. Zur warmen Flüssigkeit läßt man rasch $\frac{1}{10}$ n-Jodlösung zufließen und zwar 15—25 ccm mehr von dieser Lösung, als man vorher $\frac{1}{10}$ n-Natronlauge zugesetzt hat, verschließt das Gefäß sofort und schüttelt um. (Die Flüssigkeit muß nach dem Jodzusatz stark braun gefärbt sein.) Nach dem völligen Erkalten wird mit Schwefelsäure angesäuert und das freigewordene Jod in der Flasche selbst mit $\frac{1}{10}$ n-Natriumthiosulfatlösung zurücktitriert. Ebenso wird bei allen folgenden Anteilen des Destillates verfahren, solange diese noch Jod in nennenswerter Weise binden. Wenn dies nicht mehr der Fall ist, kann die Destillation als beendet angesehen werden. Die von den einzelnen Destillaten gebundenen Jodmengen werden addiert; die Summe gibt das von beiden Phenolen zur Bildung des Trijodsubstitutionsderivates verbrauchte Jod an.

$$\begin{aligned} 1 \text{ ccm } \frac{1}{10} \text{ n-Jodlösung} &= 0,001567 \text{ g Phenol oder} \\ &= 0,0018018 \text{ g Kresol.} \end{aligned}$$

Es wird sich empfehlen, die verbrauchte Jodmenge auf Kresol zu berechnen, da unter den Harnphenolen das Parakresol vorwalten soll. Nach den Versuchen von E. Baumann¹⁾ bestanden 85% der Gesamtphenole aus p-Kresol. Nach M. Siegfried und R. Zimmermann²⁾ sollen nur etwa 58% davon p-Kresol sein.

Beurteilung.

E. Salkowski³⁾ hat gefunden, daß Traubenzucker, Fruchtzucker bei der Destillation mit verdünnten Säuren Substanzen von aldehyd- oder ketonartiger Natur (Furfurol u. a.) geben, die mit Jodlösung unter Bildung von Jodoform reagieren, wodurch zu hohe Phenolwerte gefunden werden. Diese Stoffe entfernt man nach Neuberg⁴⁾ in folgender Weise. In einem zwei Liter fassenden Kolben wird das Destillat von der Behandlung mit Calcium- oder Magnesiumcarbonat mit einer Auflösung von 1 g Ätznatron und 6 g festem Bleizucker versetzt und nach dem Umschütteln etwa 15 Minuten auf einem lebhaft siedenden Wasserbade erhitzt. Die leicht flüchtigen Aldehyde entweichen, ein Teil des Bleioxyds gibt mit Phenol basisches Bleiphenolat. Zur vollkommenen Entfernung der Aldehyde erhitzt man den Kolbeninhalt am absteigenden Kühler auf freier Flamme, bis das übergehende Destillat ammoniakalische Silberlösung nicht mehr reduziert, was nach etwa fünf Minuten der Fall ist. Längeres Erhitzen ist zu vermeiden, um die Bleiphenolate nicht zu trennen. Man säuert dann den Kolbeninhalt stark mit verdünnter Schwefelsäure an und destilliert die Phenole unter zweimaliger Ergänzung der Flüssigkeitsmenge durch Wasser ab. Im Destillate nimmt man die titrimetrische Bestimmung der Phenole nach Koßler-Penny wie angegeben vor.

W. Mooser⁵⁾ glaubt, im Harn einen Körper, Urogon genannt, nachgewiesen zu haben, der mit den Phenolen zur Titration gebracht mit Jod reagiert; ob es sich um ein verunreinigtes Kresol handelt oder in welchen Beziehungen der Stoff zum Kresol steht, bedarf noch der weiteren Prüfung. Nach C. Neuberg und L. Czapski⁶⁾ wären Urogon und Urogol lediglich verunreinigtes Kresol. Nach dem Stehen von Harn soll eine Vermehrung der Phenole eintreten.

Mooser verfährt, um die angegebenen Fehler bei der Destillation auszuschließen, zur Phenolbestimmung in folgender Weise: 250–500 g schwach alkalisch gemachten Harnes werden auf dem Wasserbade auf etwa ein Drittel bis ein Fünftel eingedampft und dann in einen mit Destillationsaufsatz und mit Kühler versehenen Destillationskolben gebracht. Durch einen im Destillationsaufsatz angebrachten Hahntrichter läßt man unter zeitweiligem Umschütteln sirupöse Phosphorsäure (1,7 D = 84,7% H_3PO_4) zufließen, daß deren Menge etwa 5% der ursprünglichen Harnmenge ausmacht. Man destilliert unter guter Kühlung bis auf etwa 100 ccm ab und wiederholt nach jeweiligem Nachfüllen von 50 ccm Wasser solange die Destillation, bis das Destillat mit Millons Reagens nicht mehr reagiert. Die aufgefangenen Destillate werden nach dem Übersättigen mit Kalkcarbonat erneut destilliert, bis alle Phenole übergegangen sind; das Destillat wird nach Koßler-Penny titriert.

M. Hensel⁷⁾ schüttelt das nach Moosers Verfahren hergestellte Destillat mit $\frac{1}{5}$ – $\frac{1}{4}$ seines Volumens reinem — vorher 4–5mal mit Natronlauge geschütteltem — Äther aus. Der Äther wird dann 4mal mit 4%iger Natriumbikarbonatlösung und darauf ebenso oft mit n-Natronlauge ausgeschüttelt; in dieser Lösung werden nach dem Neutralisieren der Hauptmenge Natronlauge die Phenole nach Koßler-Penny bestimmt.

Im Rückstande von der Destillation, also in dem bei der Destillation im Kolben gebliebenen sauren Rückstande, befinden sich noch das Brenzkatechin und das Hydrochinon, die durch Ausschütteln mit Äther dem Rückstande entzogen und, wie bei Brenzkatechin angegeben, getrennt werden können.

2. Nach W. F. Koppeschaar.⁸⁾

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1882. 6. 183.

²⁾ Biochem. Zeitschr. 1911. 34. 472.

³⁾ Archiv Physiol. 1894. 56. 339.

⁴⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1899. 27. 123.

⁵⁾ Ebenda. 1909. 63. 183. 185.

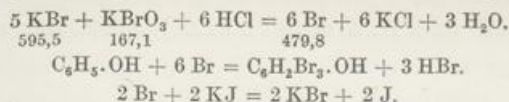
⁶⁾ Biochem. Zeitschr. 1914. 67. 28.

⁷⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1912. 78. 373.

⁸⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 1876. 15. 233.

Prinzip.

Eine Lösung von bromsaurem Natrium und Bromnatrium entwickelt mit Salzsäure Brom, das sich mit Phenol zu Tribromphenol verbindet; das im Überschusse vorhandene Brom macht aus Jodkalium eine äquivalente Menge Jod frei, die durch Thiosulfat gemessen wird.



Erforderliche Lösungen.

1. $\frac{1}{10}$ n-Thiosulfatlösung S. 119.

2. Lösung von bromsaurem Natrium und Bromnatrium. Eine Lösung von 60–70 g einer Mischung von $\text{NaBrO}_3 + \text{NaBr}$ im Liter; die Mischung erhält man dadurch, daß man eine Lösung von reinem Ätznatron mit Brom im Überschusse zur Trockne eindampft und den Rückstand durch Zerreiben gut mischt.



3. Eine Lösung von Jodkalium, 83 g im Liter, ungefähr $\frac{1}{2}$ -normal.

4. Stärkelösung (S. 58).

Titerstellung der Bromatlösung.

Man mißt mit einer Meßpipette oder noch besser mit der Bürette genau 10 ccm der Bromatlösung in ein Becherglas oder in einen Erlenmeyerkolben und gibt 15 ccm Jodkaliumlösung und einige Kubikzentimeter konz. Salzsäure hinzu. Die braune Lösung von ausgeschiedenem Jod titriert man mit $\frac{1}{10}$ n-Thiosulfatlösung zurück; zuletzt, wenn die Lösung schwach gelb ist, setzt man von der Stärkelösung hinzu und titriert bis zum Verschwinden der blauen Farbe. Die verbrauchten Kubikzentimeter werden notiert.

Ausführung.

Das Destillat oder einen genau abgemessenen Teil des zu einem bestimmten Volumen aufgefüllten Destillates gibt man in eine mit einem gut eingeriebenen Glasstopfen versehene Flasche, läßt ein bestimmtes Volumen der Bromatlösung zufließen, setzt einige Kubikzentimeter Salzsäure hinzu und schüttelt gut durch; die Flüssigkeit darf sich nicht entfärben, sonst muß mehr Bromatlösung zugesetzt werden.

Nach $\frac{1}{4}$ stündigem Stehen der Flasche mit Inhalt titriert man, wie angegeben, das ausgeschiedene Jod mit Thiosulfatlösung zurück.

Zieht man die verbrauchten Kubikzentimeter Thiosulfatlösung von den bei der Titerstellung für die gleiche Menge der Bromatlösung verbrauchten ab, dann zeigt vom Reste jeder Kubikzentimeter der $\frac{1}{10}$ n-Thiosulfatlösung = 0,001567 g Phenol an.

Wahl der Methode.

Die Methode 1 wäre nach den gewonnenen Erfahrungen vorzuziehen, obwohl auch die Methode 2 brauchbare Ergebnisse liefert.

Es sind noch weitere Bestimmungsmethoden ausgearbeitet worden; die beiden angegebenen sind die zuverlässigsten.

W. Antenrieth und F. Beuttel¹⁾ haben eine Fällung der Phenole als Tribromphenolbrom durch im Überschusse zugesetztes Bromwasser empfohlen; das Gemisch muß man am besten im Eisschranke 1–1 $\frac{1}{2}$ Tag stehen lassen; der Niederschlag wird gesammelt und im Vakuum über Schwefelsäure bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

F. Bordas und L. Robin²⁾, K. Kiesel³⁾ geben kolorimetrische Methoden an; nach ersteren wird die mit Ammonium pikrat oder die bei Einwirkung von Stickstoffdioxid auf wässrige Phenollösung eintretende Färbung mit der von Vergleichslösungen gemessen; nach letzterem wird die durch Millons Reagens hervorgerufene Reaktion mit Normallösungen verglichen.

¹⁾ Archiv Pharm. 1910. 248. 112.

²⁾ Compt. rend. 1898. 50. 87.

³⁾ Monatsheft. prakt. Tierheilk. 1904. 15. 84

A. Bonanni benutzt zur Bestimmung das Spektrophotometer, E. Riegler ein gravimetrisches Verfahren.

B. Das Kresol. $C_6H_4 \cdot CH_3 \cdot OH$.

Das Kresol macht den Hauptbestandteil der im Harne enthaltenen Phenole aus, und zwar ist es vorwiegend als Parakresol vorhanden. Es wird mit dem Phenol zugleich nachgewiesen. Zur Trennung der beiden Phenole müßten größere Harnmengen verarbeitet werden; erkannt wird das Kresol neben dem Phenol durch Umwandlung in die Sulfosäuren; dies wird durch Erwärmen der Phenole mit dem gleichen Gewichte konz. Schwefelsäure während einer Stunde auf dem Wasserbade erreicht. Werden die gebildeten Sulfosäuren mit Baryt neutralisiert, so bleibt das Barytsalz der Parasäure — der parakresolsulfosaure Baryt — in Barytwasser unlöslich, während das Barytsalz des Phenols in Barytwasser löslich ist (Baumann).

Das Parakresol färbt sich in wässriger Lösung mit Eisenchlorid schön blau; mit Bromwasser im Überschusse versetzt tritt die Trübung langsamer ein, wie in einer Phenollösung.

Beim Schmelzen mit Kalihydrat liefert p-Kresol, das in Prismen krystallisiert und bei 36° schmilzt, die p-Oxybenzoesäure.

Nach v. Jaksch wird eine wässrige Lösung von p-Kresol durch Kalilauge und Nitroprussidnatrium rotgelb und dann nach dem Ansäuern mit Essigsäure rosarot gefärbt.

Die Probe nach Jacquemin (s. Phenol S. 361) tritt mit Parakresol nicht ein.

Eine von C. Arnold und G. Werner¹⁾ angegebene Reaktion zur Unterscheidung von Phenol und Kresol ist wenig scharf und versagt leicht.

Brieger hat eine Trennung durch fraktionierte Destillation des durch Destillation gewonnenen Phenolgemisches durchgeführt.

Getrennte Bestimmung von Phenol und Kresol (p-Kresol) im gewonnenen Harndestillate nach dem Verfahren von M. Siegfried und R. Zimmermann.²⁾

Prinzip.

Es werden mit der gleichen Phenolkresollösung — man verwendet wohl zweckmäßig das nach Moosers Verfahren gewonnene Destillat, das man mit einem Überschusse an Natronlauge auf dem Wasserbade eingengt und auf 200 ccm in einem Meßkolben aufgefüllt hat oder das von den Verfassern zu diesem Zweck hergestellte (am Schlusse des Abschnittes) — zwei Bestimmungen ausgeführt:

- I. wird die Menge Brom ermittelt, die das Phenol und das Kresol zusammen verbrauchen, indem aus ersterem Tribromphenol, aus letzterem Tribromkresol entsteht (b_1); hierzu läßt sich die Methode Messinger-Vortmann-Koßler-Penny oder eine von den Verf. modifizierte von Koppeschaar-Keppler verwenden. In ersterem Falle wird das Brom aus der verbrauchten Jodlösung berechnet, im zweiten erhält man direkt die gesuchte Brommenge und hat nicht zweierlei Lösungen nötig;
- II. gelingt es unter den beschriebenen, genau einzuhaltenden Bedingungen, durch Brom und nachherigen Zusatz von Jodkalium zur sauren Lösung quantitativ Tribromphenol und Tribromparakresol zu erzeugen und bei der zweiten Bestimmung die Menge Brom (b_2) zu ermitteln, die bei der Überführung des Phenols in Tribromphenol und des Kresols in Dibromkresol verbraucht wird.

¹⁾ Apoth.-Ztg. 1905. 20. 925.

²⁾ Biochem. Zeitschr. 1910. 29. 368; 1911. 34. 462; 1915. 70. 124.

Man berechnet in folgender Weise:

Die nach I. gefundenen Gewichtsmengen Br. = b_1
 „ „ II. „ „ „ „ = b_2
 „ gesuchten Gewichtsmengen Kresol. . . . = x
 „ „ „ „ Phenol = y .
 „ Molekulargewicht des Kresols = 108,06
 „ „ Phenols = 94,05
 „ „ Broms = 79,92.

($b_1 - b_2$) ist die Menge Brom, die von dem vorhandenen Kresol nach der Bestimmung II weniger verbraucht wird als nach der Bestimmung I. Da diese Menge für 1 Mol. Kresol 2 Atome Brom beträgt, ist:

$$\begin{aligned} \text{C}_7\text{H}_8\text{O} + 3 \text{Br}_2 &= \text{C}_7\text{H}_5\text{Br}_3\text{O} + 3 \text{HBr} \\ \text{C}_7\text{H}_8\text{O} + 2 \text{Br}_2 &= \text{C}_7\text{H}_6\text{Br}_2\text{O} + 2 \text{HBr} \\ \text{I. } \frac{x}{108,06} &= \frac{b_1 - b_2}{159,84} \quad \text{oder} \quad x = \frac{108,06 (b_1 - b_2)}{159,84} = 0,67605 (b_1 - b_2). \end{aligned}$$

Die Brommenge, die der unbekannten Menge Phenol entspricht, wird durch die Differenz der in der ersten Bestimmung erhaltenen Brommenge b_1 und der dem Kresol entsprechenden Menge Brom erhalten. Ferner verhält sich die gesuchte Menge Phenol zu dieser Brommenge wie das Molekulargewicht des Phenols zu dem Molekulargewicht von 6 Atomen Brom.

$$\begin{aligned} \text{C}_6\text{H}_6\text{O} + 3 \text{Br}_2 &= \text{C}_6\text{H}_3\text{Br}_3\text{O} + 3 \text{HBr} \\ \text{Also: II. } \frac{y}{b_1 - x} &= \frac{94,05}{479,52}; \quad x \text{ aus I.} \\ y &= \left(b_1 - \frac{0,67605 \cdot (b_1 - b_2) \cdot 479,52}{108,06} \right) \cdot \frac{94,05}{479,52} \\ y &= b_1 \cdot 0,19613 - (b_1 - b_2) 0,5884 \\ y &= b_2 \cdot 0,5884 - b_1 \cdot 0,3923. \end{aligned}$$

Erforderliche Lösungen:

1. $\frac{n}{10}$ Natriumthiosulfatlösung.
2. Kaliumbromatbromidlösung, im Liter 0,834 g Kaliumbromat und 2,97 g Kaliumbromid enthaltend.
3. 5%ige Jodkaliumlösung, die nach dem Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure Stärkelösung nicht bläuen darf.
4. Stärkelösung, aus löslicher Stärke bereitet.
5. Schwefelsäure, aus gleichem Volumen Wasser und konz. Schwefelsäure bereitet.
6. Etwa 25%ige Salzsäure.

(Den Titer der Bromatbromidlösung bestimmt man in folgender Weise: In einer verschließbaren Flasche von etwa 250 ccm Inhalt werden 100 ccm Bromatbromidlösung mit 10 ccm 25%iger Salzsäure und mit 15 ccm 5%iger Jodkaliumlösung vermischt. Das freie Jod wird mit $\frac{n}{10}$ Thiosulfatlösung titriert, wobei die Stärkelösung erst gegen das Ende der Reaktion zugefügt wird, d. h. wenn die Flüssigkeit nur noch gelb gefärbt ist. 1 ccm Thiosulfatlösung = 0,007992 g Br.)

Ausführung der Methode. A. Bestimmung von b_1 .

In einer etwa 500 ccm fassenden, mit Glasstopfen versehenen enghalsigen Flasche versetzt man die genau gemessene Menge der wässrigen Lösung des Phenolgemisches (etwa 0,02–0,04 g der Phenole), die man auf 100 ccm verdünnt hat, mit 20–30 ccm Schwefelsäure (1:1), schüttelt um, läßt mindestens eine halbe Stunde bei Zimmertemperatur stehen und fügt aus einer Bürette unter Umschwenken zunächst soviel der Kaliumbromidbromatlösung hinzu, bis sich beim Schütteln der Niederschlag zusammenballt und die Flüssigkeit deutlich gelb gefärbt ist. Dann läßt man noch den 8. Teil der angewandten Menge Bromlauge hinzufießen und die Mischung gut verschlossen unter öfterem kräftigem Umschütteln 1 Stunde lang in Eiswasser stehen. Hierauf wird unter Vermeidung von Bromverlust durch Glaswolle in 25–30 ccm 5%iger Jodkaliumlösung filtriert, die erste Flasche mit Wasser gut nachgespült, mit diesem zur Absorption freier Bromdämpfe gut durchgeschüttelt und mit diesem Wasser der Niederschlag ausgewaschen. Im Filtrate wird mit $\frac{n}{10}$ Thiosulfatlösung das Jod titriert.

B. Bestimmung von b_2 .

Die gleiche Menge der Lösung des Phenolgemisches wie in A. versetzt man in einer mit Glasstopfen versehenen Literflasche mit etwa 30 ccm 25%iger Salzsäure, verdünnt bis auf 500 ccm mit Wasser und kühlt auf 5° ab. Dann fügt man unter gleichmäßigem langsamem Umschwenken die Menge Bromatbromidlösung hinzu, die nach der b_1 -Methode bis zur Gelbfärbung der Flüssigkeit verbraucht wurde und noch 1% mehr und läßt die Mischung, ohne zu schütteln, gut ver-

schlossen, 15 Minuten in Eiswasser stehen. Es kommt hierbei hauptsächlich darauf an, daß der entstehende Niederschlag sehr feinflockig ausfällt, was man nur durch ganz vorsichtiges Umschwenken erzielt.

Nach 15 Minuten versetzt man die Mischung mit 25–30 ccm 5%iger Jodkaliumlösung, schüttelt allmählich um, bis die Flüssigkeit gleichmäßig gefärbt ist und läßt die Mischung 1 Stunde vor Licht geschützt stehen. Darauf schüttelt man mehrere Male kräftig durch und titriert das freie Jod mit $\frac{n}{10}$ Thiosulfatlösung.

Berechnung siehe bei Prinzip.

$$\begin{aligned} b_1 &= \text{die nach A. gefundene Menge gebundenen Broms,} \\ b_2 &= \text{„ „ B. „ „ „ „ „ „} \\ x &= \text{die gesuchten Mengen Parakresol,} \\ y &= \text{die gesuchten Mengen Phenol.} \\ x &= 0,67605 (b_1 - b_2) \\ y &= 0,5884 \cdot b_2 - 0,3923 \cdot b_1. \end{aligned}$$

Nach verschiedenen Versuchen haben die Verfasser für die Bestimmung des Phenols und des p-Kresols im Harn die folgende Methode ausgearbeitet.

3 Liter mit Natronlauge bis zur schwach alkalischen Reaktion versetzten Harnes werden in einer Schale auf dem Wasserbade bis zu etwa $\frac{1}{5}$ des ursprünglichen Volumens eingeeengt und in den Destillationskolben übergeführt. Dieser ist durch einen dreifach durchbohrten Gummistopfen außer mit dem Destillationsrohre (Kühler) und dem den Wasserdampf zuleitenden Rohre mit einem Hahntrichter versehen, durch den bei den folgenden Manipulationen sowohl die Schwefelsäure, als das in Wasser aufgeschwemmte Natriumbicarbonat (an Stelle von Calcium- oder Magnesiumcarbonat s. S. 362) eingefüllt werden. Durch den Hahntrichter wird die abgekühlte Mischung von 150 g konzentrierter Schwefelsäure und 150 ccm Wasser gegeben; es wird mit Wasserdämpfen unter gleichzeitigem Erhitzen des Destillationskolbens bis zum Sieden der Flüssigkeit so lange, gegebenenfalls länger destilliert, bis das Destillat die Millonsche Reaktion nicht mehr gibt. Man prüft erst dann mit dem Reagens, wenn das Volumen des Destillates etwa 1 Liter beträgt.

Dieses Destillat wird im Kolben mit 30–40 g im Wasser aufgeschwemmten Natriumbicarbonates durch den Hahntrichter vermischt und unter Durchleiten eines Kohlensäurestromes, den man vorteilhaft schon durch den Wasserdampfentwickler führt, wieder bis zum Versagen der Millonschen Reaktion oder länger destilliert. Das Destillat wird nach Neuberg (S. 363) mit der Mischung der wässrigen Lösungen von 3 g Natriumhydrat und 18 g Bleiacetat im Kolben versetzt, auf einem siedenden Wasserbade 15 Minuten stehen gelassen, dann, bis alkalisch-ammoniakalische Silbernitratlösung nicht mehr reduziert wird, abdestilliert. Hierauf wird mit Schwefelsäure (1 : 1), die durch den Hahntrichter zugegeben wird, stark angesäuert und die Destillation mit Wasserdämpfen bis zum Versagen der Millonschen Reaktion fortgesetzt. Das Destillat wird mit einem großen Überschusse von Natronlauge in einer Schale auf dem Wasserbade eingeeengt und im Meßkolben auf 200 ccm aufgefüllt; damit werden die Bestimmungen nach der Methode b_1 und b_2 vorgenommen.

Beurteilung.

Die Verfasser empfehlen diese Methode als brauchbar und genau. A. Ellinger¹⁾ schlägt vor, das nach Moosers Vorschrift gewonnene Destillat für die Trennung der Phenole zu verwenden.

C. Das Brenzkatechin. Orthodioxybenzol. $C_6H_4(OH)_2$ 1,2.

Das Brenzkatechin findet sich in sehr geringen Mengen im Harn regelmäßig und kommt aus der im Pflanzenreiche weitverbreiteten Protokatechinsäure, Brenzkatechincarbonsäure; brenzkatechinreicher Harn färbt sich beim Stehen, besonders bei alkalischer Reaktion, dunkel.

Reichlicher kommt Brenzkatechin nach dem Genusse von Phenol und Benzol als Brenzkatechinschwefelsäure oder als gepaarte Glykuronsäure vor. Das Benzol und Phenol gehen also zum Teil in Diphenole über.

Darstellung.

Stark mit Salzsäure angesauerter Harn wird nach Baumann²⁾ kurze Zeit zum Kochen erhitzt und nach dem Erkalten einige Male mit Äther im

¹⁾ Neubauer-Huppert, Analyse d. Harns. C. W. Kreidel, Wiesbaden. 1913. 2. Teil. 791.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1883/84. S. 188.

Scheidetrichter ausgeschüttelt. Die ätherischen Auszüge befreit man durch Abdestillieren zum Teil von Äther, schüttelt sie wiederholt mit einer wässrigen Sodalösung und verdunstet den Äther. Den Ätherrückstand nimmt man mit etwa 20 ccm gesättigter Kochsalz- oder Glaubersalzlösung auf, filtriert und destilliert die Salzlösung nach dem Verdünnen mit Wasser unter Durchleiten von Wasserdampf so lange, als flüchtige Phenole übergehen. Der Destillationsrückstand wird mit Äther ausgeschüttelt, der Äther verdunstet, der zurückbleibende Sirup im Wasser gelöst und durch Bleizucker gefällt (Vermeidung eines Überschusses). Im Niederschlage ist Brenzkatechin, im Filtrate Hydrochinon. Der erstere wird mit Wasser vermischt, durch Schwefelsäure zersetzt und mit Äther ausgeschüttelt; aus der Ätherlösung krystallisiert Brenzkatechin aus, das durch Umkrystallisieren aus heißem Benzol gereinigt werden kann.

Nachweis.

1. Die wässrige Lösung des Brenzkatechins gibt mit verdünnter Eisenchloridlösung versetzt eine Grünfärbung, die nach Zusatz von verdünnter Ammoniumcarbonatlösung violett, nach Zusatz von Essigsäure wieder grün wird (Brieger).
2. Alkalische Kupferlösung (Fehlingsche Lösung) und ammoniakalische Silberlösung werden reduziert.
3. Natriumbichromat in 2%iger Lösung und Sulfanilsäure geben mit einer wässrigen Brenzkatechinlösung eine weinrote bis rosa-rote Färbung (G. Bayer).

Eigenschaften.

Das Brenzkatechin krystallisiert aus Wasser und Äther in tetragonalen Prismen, aus Benzol in breiten Tafeln (Schmelzpunkt 104°); es sublimiert in glänzenden Blättchen und ist löslich in Wasser, Äther, Alkohol, in heißem Toluol und in kaltem Benzol (Unterschied von Hydrochinon). Durch essigsaures Blei wird es gefällt. Die Lösungen edler Metalle werden reduziert; Alkalien rufen Zersetzung unter Braunfärbung hervor.

D. Hydrochinon. Paradioxybenzol. $C_6H_4(OH)_2$ 1,4.

Das Hydrochinon ist nach seinem Gebrauche, sowie nach Verabreichung von Phenol und Benzol im Harn als Ätherschwefelsäure (Hydrochinonglykuronsäure) vorhanden.

Darstellung.

Siehe Brenzkatechin. Im Filtrate vom Brenzkatechinniederschlage ist das Hydrochinon, das durch Blei nicht gefällt wird, vorhanden; das Filtrat wird mit Schwefelsäure zersetzt, nach Zusatz von kohlenstoffsaurem Baryt erwärmt, filtriert und das Filtrat mit Äther ausgeschüttelt; dieser wird verdunstet. Der krystallinisch erstarrende gelbe bis braune Rückstand wird aus siedendem Benzol oder Toluol umkrystallisiert.

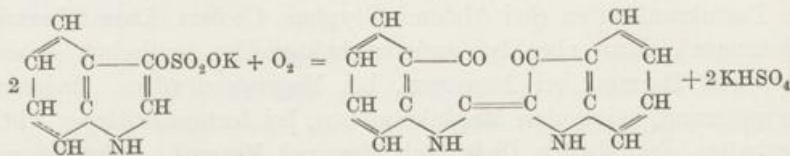
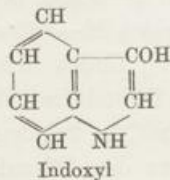
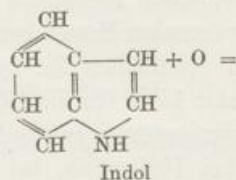
Nachweis.

1. Das Hydrochinon entwickelt beim schnellen Erhitzen im offenen Reagenzglase violette Dämpfe und bildet ein indigoblaues Sublimat; die Farbe verschwindet beim Befeuchten.
2. Mit Eisenchlorid entsteht nur eine vorübergehende Blaufärbung.
3. Beim Unterschichten einer Lösung von 0,15–0,20 g Hydrochinon in 3–4 ccm Alkohol mit Natronlauge entsteht ein grünlicher Ring.

Eigenschaften.

Es krystallisiert in rhombischen, bei 169° schmelzenden Säulen oder Tafeln und ist löslich in heißem Wasser, Alkohol, Äther, in heißem Toluol, sehr schwer ist es löslich in kaltem Benzol (Unterschied vom Brenzkatechin); beim Erwärmen der wässrigen Lösung mit Eisenchlorid entsteht Chinon (penetranter Geruch). Durch essigsaures Blei wird es nicht gefällt. (Unterschied von Brenzkatechin.) Silbernitratlösung, Fehlingsche Lösung werden reduziert.

E. Indol, Indoxyl, Indican (Harnindikan), Indigo.



Indoxylschwefelsaures Kali, Indican

Indigo, Indigblau

Das Indoxyl ist das Oxydationsprodukt des Indols, das die Muttersubstanz der ganzen Indigogruppe darstellt (Jaffé) und das bei jeder Eiweißfäulnis wohl durch bakterielle Zersetzung des Tryptophans (Indolamino-propionsäure) als Gärungsprodukt im Darminhalte (Dünndarm) entsteht und sich vorfindet. Das resorbierte Indol wird in den Geweben, im Organismus zu Indoxyl oxydiert und dieses vereinigt sich ebenso, wie wir es bei den anderen Phenolen gesehen haben, unter Wasseraustritt mit der Schwefelsäure, zum kleineren Teile auch mit Glykuronsäure, zu einer Ätherschwefelsäure, zu indoxylschwefelsaurem Kali (Baumann) oder zu Indoxylglykuronsäure.

Werden diese, allerdings nicht richtig, auch Indican genannten Substanzen — unter Harnindican versteht man die eben erwähnten Verbindungen des Indoxyls mit Schwefelsäure, mit Glykuronsäure, das indoxylschwefelsaure Kalium —, die ausschließlich zu besprechen sind, mit einer Säure und

einem Oxydationsmittel behandelt, so werden sie gespalten und das freigewordene Indoxyl wird zu Indigoblau (Indigo) oxydiert.

Auf dieser Eigenschaft beruht der Nachweis des Indoxyls, des sogenannten Indicans, des Harnindicans.

Das indoxylschwefelsaure Kalium wurde von E. Baumann aus dem Harn isoliert; es stellt weiße Blättchen dar, die rasch erhitzt ein krystallinisches Sublimat von Indigo geben. Mineralsäuren spalten Indoxyl ab. Die Krystalle sind in Wasser leicht löslich.

Die Indoxylglykuronsäure ist weniger beständig; sie dreht links und wird beim Eindampfen von Harn, bei der ammoniakalischen Harn gärung zerlegt (Abscheiden von Indigo).

Vorkommen.

Jeder normale Harn enthält Indoxyl (Indican), nach Jaffé 5—20 mg, nach H. Strauss 2—4 mg, nach E. Wang 15 mg, nach Serkowski 4—20 mg in der innerhalb 24 Stunden entleerten Harnmenge als Indigo in Rechnung gestellt; dieser Gehalt hängt auch von der Nahrung ab, da z. B. Fleischkost diesen Gehalt vermehrt; bei kohlenhydratreicher Nahrung und Milchdiät sinkt die Indicanmenge bis auf 4—5 mg; bei pathologischen Zuständen kann eine Vermehrung eintreten, die das 10—12fache der normalen Menge betragen kann. Eine solche Vermehrung findet sich bei der reichlichen Zerstörung, bei der Fäulnis von Eiweiß im Dünndarme, der in erster Linie für die Bildung des Indoxyls in Betracht kommt, so bei den Verdauungsstörungen, dann bei Darneinklemmungen, besonders des Dünndarmes, bei Peritonitis, bei allen anderen Darmkrankheiten (bei Abdominaltyphus, Cholera, Darmtuberkulose, Darmblutungen), dann aber bei anderen bakteriellen septischen Prozessen außerhalb des Darmes, bei Abscessen, bei Magengeschwüren, Magenkrebs, Magenerweiterung, bei akuten Magenkatarrhen, bei fortgeschrittener Phthise, bei fieberhaften Krankheiten (Scharlach, Erysipel, Masern). Gefunden wurde das Indican in größerer Menge bei Leber-, Uteruskrebs, nach Bleikolik.

Die Hauptquelle der Bildung des Harnindicans sind die Darmbakterien (indolbildende Bakterien, so die der Coligruppe, des Proteus, der Diphtherie u. a.).

Häufiger wird das Vorkommen von Aceton bei Indikanurie festgestellt (E. R. Wilson).

Im allgemeinen, sagt v. Jaksch, ist das Auftreten großer Mengen Indicans als Symptom zu deuten, daß irgendwo im Körper eine stärkere Eiweißfäulnis stattfindet. Doch ist dieses für irgendeine spezielle Diagnose (z. B. jauchiger Absceß) nur mit einer gewissen Vorsicht zu verwerten, da durch einfache Kotstauung ebenfalls eine sehr beträchtliche Indicanurie hervorgerufen werden kann.

Nach C. F. Askenstedt¹⁾ gestattet das Verhältnis zwischen Harnstoff und Indican einen besseren Vergleich, als der Prozentgehalt an Indican allein.

¹⁾ Pharm. Zentrbl. 1911. 52. 322.

Bei Gesunden soll dieses 1:1500—2500 (Harnstoff) betragen; bei gestörter Verdauung kann es bis zu 1:100 herabgehen.

Von Arzneimitteln vermindern Kalomel und Bismut. subnitric. die Indicanausscheidung.

In seltenen Fällen, manchmal im faulenden Harn, findet sich das indoxylschwefelsaure Kali schon in zersetztem und oxydiertem Zustande als Indigo vor; man sieht diesen dann als rotschillernden Überzug auf dem Harn oder in kleinen nadelförmigen, indigoblauen Krystallen am Boden der Gefäße, nicht selten in sternförmiger Gruppierung abgeschieden. Es kann aber in manchen Fällen sogar ein blaugefärbter Harn entleert werden, wie dies bei Morb. Brightii, bei Magen- und Leberkrebs beobachtet wurde. Auch kleine aus Indigo bestehende Steine wurden entleert.

Hier mag bemerkt sein, daß F. Stirnimann beobachtet hat, daß der Harn eines Patienten, der Arnicatinktur innerlich genommen hatte, Indicanurie vortäuschte, herrührend von dem Thymolhydrochinonmethylester, der in dem mitverwendeten Wurzelstocke vorhanden ist.

P. Sommerfeld¹⁾ beobachtete bei einem 7jährigen Knaben das Ausscheiden eines dunkelgrün gefärbten, an Indican reichen Harnes.

Auf interessante Studien von R. V. Stanford²⁾ über indigobildende Substanzen im Harn (Harnindikan) und von G. Hoppe-Seyler³⁾ sei hingewiesen.

Qualitativer Nachweis des Indoxyls (Indicans).

Die Methoden zum Nachweis beruhen auf der Spaltung der erwähnten Verbindungen und der Oxydation des freigewordenen Indoxyls zu Indigo.

1. Nach M. Jaffé.⁴⁾

Man gibt zu 10 ccm Harn, der von etwa vorhandenem Eiweiß befreit worden ist, das gleiche Volumen konz. Salzsäure, dann 2—3 ccm Chloroform und fügt unter Umschütteln vorsichtig und langsam 1—2 Tropfen kaltgesättigter Chlorkalklösung (oder $\frac{1}{2}\%$ ige Kaliumpermanganat- oder Eisenchloridlösung) hinzu. Durch öfteres Umdrehen des verschlossenen Glases nimmt das Chloroform das gebildete Indigblau auf und wird hierbei mehr oder weniger, je nach dem Gehalte des Indigos, gefärbt. Die Chloroformlösung zeigt einen scharfen Absorptionsstreifen zwischen C und D.

H. Sahli bringt einige Kubikzentimeter Salzsäure mit einem Tropfen der Chlorkalklösung ins Reagenzglas, schüttelt durch und schichtet die gleiche Menge Harn darüber. An der Grenze der Flüssigkeiten bildet sich die Indicanreaktion allmählich schön aus.

Nach Keilmann kann man die Jaffésche Probe zur annähernden Bestimmung der Indigomenge verwenden; wenn bei Anwendung von 3 ccm Harn, 3 ccm konz. Salzsäure, 1 ccm Chloroform bis zur Isatinbildung mehr als 12 Tropfen der vorsichtig tropfenweise zugegebenen, mit gleichen Teilen Wasser verdünnten konz. Chlorkalklösung verbraucht werden, ist der Harn als pathologisch anzusehen, wenn 20 und mehr Tropfen nötig sind, handelt es sich um schwere Indicanurie. Diese Bestimmung ist selbstverständlich eine nur ganz annähernde.

¹⁾ Münch. med. Wochenschr. 1911. 58. 2793.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1913. 87. 188.

³⁾ Ebenda. 1916. 97. 271. 250; Deutsch. med. Wochenschr. 1916. 42. 1213.

⁴⁾ Archiv Physiol. 1870. 3. 448.

Beurteilung.

Ein Überschuß des Oxydationsmittels (besonders von der Chlorkalklösung) muß vermieden werden, da sonst Indigo rasch weiter zu Isatin — einem farblosen Körper — oxydiert wird. Sicherer ist es, die Oxydation durch vorsichtigen Zusatz von Eisenchlorid zu bewerkstelligen, das auf den einmal gebildeten Indigo nicht weiter einwirkt. Starkes Schütteln veranlaßt eine öfters kaum mehr zu trennende Emulsion. Enthält der Harn Jodide, die das Chloroform violett färben, so gibt man nachträglich etwas Thiosulfat hinzu oder schüttelt die Chloroformlösung mit etwas Kalilauge (B. Hendrix). Doch siehe nächste Seite.

Bei Anwesenheit von Chrysophansäure kann eine grünlichgelbe Färbung des Chloroforms erfolgen, nach Einnehmen von Bromverbindungen eine gelbe.

Den störenden Einfluß von Urobilin kann man dadurch beseitigen, daß man den angesäuerten Harn mit Ammoniumsulfat sättigt und das Urobilin durch Schütteln mit Essigäther entfernt.

Wenn sich das Chloroform rötlich färbt, so soll der Harn Skatol enthalten, das klinisch gleichwertig ist; dieses, ebenso die Skatoxylschwefelsäure sind jedoch im Urin in einwandfreier Weise noch nicht nachgewiesen worden (s. S. 381).

Methylenblau, das wie Indigo in Chloroform, Amylalkohol und Nitrobenzol, nicht in Tetra-chlorkohlenstoff (zum Unterschiede von Indigo) löslich ist, unterscheidet sich dadurch, daß starke Salzsäure den Methylenblau enthaltenden Harn entfärbt, ebenso auch den blauen Chloroformauszug. Spektroskopisch zeigt eine Lösung von Methylenblau in Chloroform ein schmales dunkles Band im Rot, wodurch es sich leicht vom Indigo unterscheidet.

2. Die Probe nach F. Obermayer.¹⁾

Der sauer reagierende Harn wird vor der Oxydation erst mit Bleiacetat behandelt, und zwar versetzt man 20 ccm Harn mit 5—10 ccm einer 10%igen Bleizuckerlösung — je nach dem spez. Gewichte des Harnes, bei Harnen mit sehr niederem spezifischem Gewichte genügen noch kleinere Mengen Blei —, filtriert und schüttelt das Filtrat mit dem gleichen Volumen rauchender Salzsäure, die im Liter 2 g Eisenchlorid enthält — das Reagens stellt man sich am besten immer frisch her, s. Beurteilung —, tüchtig durch; man wiederholt dieses Umschütteln nach dem Zusatze von 5 ccm Chloroform. Die Chloroformlösung färbt sich in der bei 1. angegebenen Weise.

Scheidet sich nach Zusatz von Salzsäure Bleichlorid aus, dann wiederholt man die Probe mit geringerem Bleizuckerzusatz.

Das Deutsche Arzneibuch V läßt mit einer 25%igen Bleiacetatlösung ausfällen, was unzweckmäßig ist (s. Beurteilung).

Beurteilung.

Diese Probe ist eine gute, da der Harn durch den Bleizusatz, von dem aber ein Überschuß möglichst zu vermeiden ist, von Farbstoffen, die stören können, befreit wird; auch setzt sich die Chloroformschicht schöner und leichter ab, während ohne den Bleizuckerzusatz häufig Emulgieren und sehr schlechtes Abscheiden des Chloroforms zu bemerken sind. Jodide werden wie bei 1 angegeben beseitigt.

Man hat auch bei dieser Probe eine Überoxydation beobachtet (Ellinger), d. h. ein Teil des Harnindoxyls wurde zu Isatin oxydiert, das sich natürlich dem Nachweis entzieht. Nach Maillards²⁾ Versuchen ist diese Überoxydation im Obermayerschen Reagens selbst zu suchen; er konnte nämlich beobachten, daß das Reagens, wenn es nur einige Tage dem Lichte ausgesetzt war, einen intensiven Geruch nach Chlor oder nach Oxyden des Chlors verbreitete. Maillard nimmt an, daß das in Lösung befindliche Eisen, vielleicht als Katalysator wirkend, die Oxydation der Salzsäure beschleunigt und daß das Reagens mit einer außergewöhnlich großen Oxydationskraft die Hyperoxydation des Indoxyls zu Isatin und damit Verluste veranlaßt. Man muß sich deshalb wohl hüten, ein solches verändertes Obermayerisches Reagens zu verwenden. Wie bei dem quantitativen Nachweis ausgeführt werden wird, sollte auch hier die Chloroformlösung gleich mit Wasser und darauf mit 1%iger Kalilauge geschüttelt, gereinigt werden. J. Gnedza³⁾ erwähnt, daß man in Harnen, die z. B. viel Urobilin enthalten, den Indicangehalt erst erkennen kann, wenn man die

¹⁾ Wien. klin. Wochenschr. 1890. 9. 176.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1904. 41. 437; Compt. rend. 1903. 136. 1472.

³⁾ Sitz. Acad. d. scienc. 1903. 6. 9; Chem. Ztg. 1903. 27. 676; Compt. rend. 1903. 136. 1407.

schiefergrau aussehende Chloroformlösung mit konz. Kalilauge im Überschusse behandelt. Wenn Harn viel Phosphate, auch Acetessigsäure, Antipyrin, Salicylate enthalten, darf man nach Gnedza zur Oxydation kein Eisenchlorid verwenden.

Die Proben 1 und 2 versagen im Harn, wenn dieser Formaldehyd enthält; jedenfalls bildet sich ein Kondensationsprodukt aus Indoxyl und Aldehyd.

Wenn Jodsalze eingenommen wurden, eignet sich die Jaffesche Probe nach C. J. Reichardt¹⁾ nicht; die Probe kann, zumal wenn der Harn frisch genommen wird, sogar ganz im Stiche lassen. Man nimmt die Obermayersche. Durch den Zusatz von Bleiacetat wird außer störenden reduzierenden Stoffen Jod als Jodblei ausgefällt. Da dieses in Alkaliacetatlösung löslich ist, ist es im Niederschlag, wie in der Lösung; in letzterer ist die größere Menge vorhanden. Zur Bestimmung des Jods verfuhr Reichardt in nachstehender Weise:

50 ccm klarer Harn werden mit 30 g 10%iger Bleiacetatlösung vermischt. Die Fällung wird abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Zum Filtrate wird Kalilauge bis zur alkalischen Reaktion zugefügt, das ausfallende Bleihydroxyd wird entfernt und das Filtrat mit etwas Stärkelösung und bis zur Schwarzfärbung allmählich mit Eisenchloridlösung versetzt. Dann wird 1 ccm $\frac{1}{10}$ n-Thiosulfatlösung auf einmal hinzugesetzt und die rotbraun gewordene Flüssigkeit bis zur Schwarzfärbung mit $\frac{1}{10}$ n-Jodlösung zurücktitriert.

Der Niederschlag wird mit Ammoniumchloridlösung erwärmt, um vorhandenes Jodblei zu lösen und dieses dann ebenso bestimmt.

3. Weitere Verfahren sind von J. Amann, A. Klett, C. Strzyzowski, A. Gürber, E. Salkowski, T. Imabuchi, R. V. Stanford, A. Loubiou empfohlen worden. Ersterer verwendet als Oxydationsmittel 10%ige wässrige Natriumpersulfatlösung, Klett das Ammoniumpersulfat, Stanford und Loubiou wählten Wasserstoffsperoxyd (nicht im Überschusse verwendet), während Strzyzowski das Filtrat des mit Bleiacetatlösung behandelten Harnes mit einem bis zwei Tropfen einer 1%igen Kaliumchloratlösung versetzt. Strzyzowski behandelt 20 ccm Harn mit 5–10 ccm (je nach Konzentration, über 1,015 10 ccm, darunter 5 ccm) 10%iger Bleizuckerlösung und bringt bei Anwendung der 5 ccm auf 30 ccm. Vom Filtrate werden dann 15 ccm mit einem Tropfen der 1%igen Lösung von chloresaurom Kali, sodann mit 5 ccm Chloroform und schließlich mit 15 ccm reiner rauchender Salzsäure (1,19) versetzt und öfters geschüttelt. In 10–15 Minuten ist die Maximalfärbung erreicht; nötigenfalls gibt man noch einen bis zwei Tropfen der Kaliumchloratlösung hinzu. Gürber²⁾ verwendet 1%ige Osmiumsäurelösung, E. Salkowski, Imabuchi empfehlen statt Eisenchlorid 1–2 ccm 10%iger Kupfersulfatlösung, die zum Harnfiltrate neben dem gleichen Volumen Salzsäure zugefügt werden.

M. Rhein hält die Verwendung von konz. Antiformin für geeigneter an Stelle der wenig haltbaren Chlorkalklösung.

Lelli verwendet eine 10%ige Goldchloridlösung in Salzsäure (1,18), 10 ccm Harn + 10 ccm Reagens; in einigen Minuten färbt sich das Gemisch lilaviolett. Man schüttelt mit Chloroform aus. Durch Bleiacetat oder mit Knochenkohle vorbehandelter Harn gibt schönere Reaktion. Jodhaltigem Harn gibt man nach dem Chloroformzusatz 1 ccm 10%ige Natriumthiosulfatlösung hinzu.

E. Nicolas versetzt indicanhaltigen Harn mit einigen Tropfen einer gesättigten wässrigen Furfurolösung und dem gleichen Volumen Salzsäure und schüttelt langsam mit Chloroform; letzteres zeigt dann eine deutliche grüne Fluoreszenz.

Ehrlich verwendet eine Lösung von 0,33 g p-Dimethylamidobenzaldehyd in 50 ccm Wasser und 50 ccm rauchender Salzsäure. Man erhitzt gleiche Teile Harn und Reagens zum Sieden und gibt nach dem Abkühlen einen Überschuss von Ammoniak oder schwacher Kalilauge hinzu. Es entsteht eine Rotfärbung, wenn Indican vorhanden ist, deren Stärke für die vorhandene Menge als Maßstab dienen kann.

A. Jolles³⁾ gibt eine neue Indikanreaktion unter Verwendung von Thymol an.

10 ccm Harn werden mit 2 ccm 20%iger Bleizuckerlösung geschüttelt und filtriert; zum Filtrate setzt man 1 ccm 5%ige alkoholische Thymollösung und 10 ccm eisenchloridhaltige Salzsäure (0,5% Eisenchlorid in konz. Salzsäure). Nach 15 Minuten fügt man 4 ccm Chloroform zu und schüttelt leicht durch. Violettfärbung des Chloroforms bei Anwesenheit von Indican. Statt der Thymollösung kann man auch 5%ige alkoholische α -Naphthollösung nehmen.

Wahl der Methode.

Die Obermayersche Probe ist unter Beobachtung der genannten Vorsichtsmaßregeln wohl die beliebteste und auch sicherste Probe. Zu bemerken ist noch, daß bei der Beurteilung des Ergeb-

¹⁾ Pharm. Ztg. 1911. 56. 321.

²⁾ Münch. med. Wochenschr. 1906. 52. 1878.

³⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1913. 87. 310; 1915. 95. 299; Pharm. Zentralh. 1913. 54. 1009; Pharm. Post. 1913. 46. 850; Monatsh. f. Chem. 1915. 36. 83.

nisses auch Rücksicht auf das spezifische Gewicht des Harnes zu nehmen ist. Wenn die Färbung z. B. intensiv ist bei einem Harn mit 1,040 spez. Gewicht, so ist es eine normale Erscheinung, im Gegensatz weist eine sogar schwache Färbung des Chloroforms bei 1,010 spez. Gewicht auf Indicanvermehrung hin (Serkowski).

Man vergesse nicht, den Harn auch auf Phenole zu prüfen. Man kann z. B. bei Eiterungen nur geringe Indikanurie, aber starke Phenolausscheidung vorfinden.

Die quantitative Bestimmung des Indicans.

1. Nach F. Obermayer, E. Wang¹⁾, A. Ellinger²⁾, L. Maillard³⁾

Prinzip.

Die vorhandene Indicanmenge wird nach dem Verfahren von F. Obermayer in Indigo, dieses in Indigosulfosäure übergeführt und die letztere durch Kaliumpermanganatlösung titrimetrisch bestimmt.

Erforderliche Lösungen.

1. Das Obermayersche Reagens (konz. Salzsäure mit 2 g Eisenchlorid für den Liter Säure). Dieses wird man stets frisch bereiten.
2. Von einer Permanganatlösung (etwa 3 g im Liter) — annähernd $\frac{1}{10}$ -Lösung — werden beim Gebrauche 5 ccm mit 195 ccm Wasser verdünnt; diese Lösung wird auf eine Oxalsäure von genau bekanntem Gehalte eingestellt (s. S. 77). Durch Multiplikation des Oxalsäurewertes der Titerlösung mit 1,04 wird die Indigomenge gefunden. Der Titer der Permanganatlösung wird aber besser auf reinen Indigo, der in konzentrierter Schwefelsäure gelöst ist, eingestellt; 1 ccm entspricht ungefähr 0,00015 g Indigo.

Mit der zweckentsprechenden Ausführung dieser Methode haben sich zahlreiche Forscher beschäftigt. Vor allem kommt auch hier in Betracht, was bei der Vornahme der qualitativen Probe nach Obermayer erwähnt wurde, man hat eine Überoxydation des Indoxyls zu verhindern, man wird nach den Erfahrungen Maillards ein frisch bereitetes Reagens verwenden. Der wichtigste und meist umstrittene Punkt bei der quantitativen Bestimmung war die Frage, in welcher Weise die Indigochloroformlösung gereinigt werden muß, um richtige Ergebnisse zu erzielen. Ellinger hat den Rückstand von der Chloroformlösung des Indoxyls durch 2—3maliges Behandeln mit heißem Wasser gereinigt, bis das abfiltrierte Waschwasser Kaliumpermanganatlösung nicht mehr entfärbte; ein 3maliges Auswaschen genügt aber meist nicht; Wang nahm die Reinigung durch Behandlung mit einem Gemische gleicher Teile Alkohol, Äther und Wasser, Obermayer mit 45%igem Alkohol vor, während Bouma zur Entfernung flüchtiger Verunreinigungen auf dem Wasserbade erwärmte. Alle diese empfohlenen Methoden zur Reinigung der Chloroformlösung oder des Chloroformrückstandes hält Maillard nicht für ausreichend; die dekantierte und filtrierte Chloroformlösung ist noch nicht rein, selbst wenn sie völlig klar erscheint. Mehrmaliges Schütteln mit destilliertem Wasser bringt zwar einige bräunliche Produkte und den Überschuß von Salzsäure zum Verschwinden, trotzdem bleibt aber die Chloroformlösung noch sehr unrein. Außer Indigotin (Hemiindigotin), Indirubin, Spuren von Isatin, die aber nicht stören, sind Phenole, aromatische Säuren und Oxyssäuren und ein oder mehrere gelbe Substanzen vorhanden, die, in Schwefelsäurelösung gebracht, immerhin, wenn auch nur wenig, Kaliumpermanganatlösung zu reduzieren vermögen; es ist aber nicht ausgeschlossen und schließlich auch noch nicht mit hinreichender Sicherheit bewiesen, ob nicht besonders in pathologischen Fällen die Menge und die Art der in Chloroform löslichen sauren Verunreinigungen möglicherweise wechselt. Daß diese Meinung Maillards nicht unrichtig ist, beweisen uns die Ausführungen von Gnedza⁴⁾, der bei pathologischen Harnen und bei solchen, die viel Urobilin enthielten, eine reine Indigochloroformlösung nicht erhalten konnte; nur durch einen Zusatz von Kalilauge ließ sich eine Reinigung ermöglichen.

Auch macht die Anwesenheit von bräunlichen Stoffen in einer Flüssigkeit, in der man bei gelber Grundfarbe das Verschwinden der letzten Spur Rosa beobachten will, die schon an sich schwierige Bestimmung des Endes der Reaktion unmöglich. Die Natur der gelben Substanzen ist noch unbekannt. Bouma hält sie für Derivate des Indoxyls, für das Indigogelb Cruisoz, doch ist dafür kein Beweis erbracht; Maillard hält es für wahrscheinlich, daß sie ein phenol- oder chinonartiges Oxydationsprodukt sind, oder daß sie vielleicht zu den Huminsubstanzen gehören.

Maillard empfiehlt, die schon vorher mit reinem Wasser ausgeschüttelte Chloroformlösung mit reiner Natronlauge (1:1000) zu waschen; es gehen sofort alle fremden Substanzen in die alkalische Flüssigkeit; die mit dem alkalischen Wasser gewaschene Chloroformlösung wird zur Beseitigung von Spuren Alkali mit reinem Wasser behandelt. Beim Eindampfen der gereinigten Chloroformlösung hinterbleibt ein Rückstand, den man in üblicher Weise mit Schwefelsäure auf-

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1898. 25. 406.

²⁾ Ebenda. 1903. 38. 182; 39. 184.

³⁾ l. c. S. 372.

⁴⁾ l. c. S. 372.

zunehmen hat, um die gewünschten Sulfoverbindungen des Indigotins und des Indirubins in völliger Reinheit zu erhalten und mit der Permanganatlösung zu bestimmen.

Salkowski¹⁾, der mit Rinderharn arbeitete, bei dem die in Frage kommenden Verunreinigungen sich noch mehr geltend machen, fand, daß nach Ellinger Kresol und Oxsäuren vollkommen entfernt werden, nicht aber sämtliche Verunreinigungen; nach Wang ist die Reinigung umständlich, leicht mit Verlusten verbunden; es ging auch etwas Indigorot in Lösung, ebenso nach Obermayer. Salkowski war mit der Reinigung nach Ellinger zufrieden, er gibt aber zu, daß er nach Abschluß seiner Abhandlung vom Verfahren Maillards Kenntnis erhalten hat und daß ihm die Reinigung mit der verdünnten Natronlauge sehr zweckmäßig erscheint; er stellte auch fest, daß durch die Reinigung sehr erhebliche Mengen oxydabler Substanzen entfernt werden, die den Endpunkt der Reaktion beim Titrieren des Indigos auf Farblosigkeit notwendig hinausschieben müssen.

P. Grosser²⁾ findet ebenfalls, daß am besten nach Maillard gearbeitet wird. Ich bin mit dieser Methode stets sehr zufrieden gewesen; die Resultate sind gute, die Ausführung ist, zumal wenn man eingearbeitet ist, eine leichte.

W. Autenrieth u. A. Funk³⁾ fanden, was ich eben sagte, daß das Reinigungsverfahren nach Maillard das beste ist und daß damit eine klare und rein blaue verdünnte Indigosulfosäurelösung erhalten wird. Sie verfahren nach dem Verfahren von Imabuchi (S. 376).

Ausführung.

Von normalem, sauer reagierendem oder mit Essigsäure schwach angesäuertem Harn werden 300 ccm (von einem bei der Vorprobe als sehr indicanreich befundenen Harn werden kleinere Harnquantitäten, bis zu 50 oder 25 ccm abgemessen) mit $\frac{1}{10}$ Volumen einer 20%igen Bleizuckerlösung allmählich versetzt, vom klaren Filtrate 250 ccm in einem Scheidetrichter mit dem gleichen Volumen des Obermayersehen Reagens zusammengebracht und 5–10 Minuten stehen gelassen; man gibt 30 ccm Chloroform hinzu und schüttelt das Gemisch (jedesmal etwa 1 Minute) so oft mit immer erneuten Chloroformmengen aus, bis das Chloroformextrakt sich farblos zeigt; gewöhnlich genügen 2–3 Ausschüttelungen. Die gesammelten Chloroformlösungen behandelt man 2–3mal mit reinem Wasser und reinigt die Chloroformlösung durch Schütteln mit sehr verdünnter Natronlauge (1:1000). Zur Beseitigung von Spuren von Alkali wird die Indigochloroformlösung mit reinem Wasser gewaschen (Ausschütteln). Aus der durch etwas Asbest filtrierten Chloroformlösung (— wenn man durch ein Papierfilterchen filtriert, schlägt man nach dem Filtrieren die Filterränder nach innen um und wäscht mit Chloroform aus —) wird das Chloroform durch Destillation entfernt, der Rückstand wird einige Minuten auf dem Wasserbade, um alle Chloroformdämpfe zu entfernen, getrocknet und dann mit etwa 10 ccm reiner konz. Schwefelsäure auf dem kochenden Wasserbade etwa 10 Minuten erwärmt. Nach erfolgter vollständiger Lösung des Indigos gibt man die Schwefelsäurelösung zu einer größeren Menge Wasser vorsichtig hinzu und führt die Titration mit der, wie angegeben, stark verdünnten $\frac{n}{400}$ Permanganatlösung aus. (Eine etwaige flockige braune Ausscheidung der Lösung in Schwefelsäure filtriert man ab, wäscht das Filter mit heißem Wasser aus und titriert das Filtrat.) Die Titration ist beendet, wenn die grünlich gewordene Färbung verschwunden und die Flüssigkeit gelblich bis ganz farblos geworden ist.

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1904. 42. 236.

²⁾ Ebenda. 1905. 44. 320.

³⁾ Münch. med. Wochenschr. 1912. 59. 764.

Die Indigoschwefelsäurelösung soll so weit verdünnt werden, daß sie schön blau, durchsichtig aussieht.

Beispiel.

Permanganatlösung = etwa 3 g im Liter.

1 ccm = 0,00596 g Oxalsäure,

1 ccm = 0,0062 g Indigo.

Von der verdünnten Permanganatlösung (5:195) entspricht demnach 1 ccm = 0,000155 g Indigo. Der isolierte Indigo verbraucht beim Titrieren 4,3 ccm Permanganat = 0,00065 g Indigo. Verwendet wurden 250 ccm Filtrat (von den angewendeten 300 ccm Harn + 25 ccm Bleizuckerlösung).

$$250 : 0,00065 = 325 : x$$

$x = 1,3 \cdot 0,00065 = 0,000845$ g Indigo in 300 ccm Harn, in der Tagesmenge von 1780 ccm also 0,005 g Indigo.

Nach den von Ellinger gemachten Erfahrungen — Verluste beim Reinigen usw. — soll $\frac{1}{6}$ der bei der Titration ermittelten Indigomenge dieser zugezählt werden.

T. Imabuchi¹⁾ gibt folgendes Verfahren zur quantitativen Bestimmung des Harnindicans, das dem Prinzip nach dem von E. Salkowski²⁾ empfohlenen gleicht, an. Der Harn wird mit $\frac{1}{10}$ Volumen Liquor Ferri subacetici gefällt; alkalisch reagierender Harn ist vorher mit Essigsäure schwach anzusäuern. 50 ccm des Harnfiltrates werden in einem Schütteltrichter mit 1—2 ccm Kupfersulfatlösung (1:10) und mit 50 ccm Salzsäure vom spez. Gewicht 1,19 versetzt; stark indicanreicher Harn muß mit Wasser derartig verdünnt werden, bis der Indigogehalt in 50 ccm Harnfiltrat weniger als 5 ccm Chamäleonlösung zur Titration verbraucht. Der Inhalt des Scheidetrichters wird nach 5—10 Minuten mit 50 ccm Chloroform ausgeschüttelt, das Chloroform abgelassen und die Ausschüttelung noch 3—4mal mit je 20 ccm Chloroform wiederholt. Die vereinigten Chloroformlösungen werden filtriert, das Chloroform wird abdestilliert (Wasserbad) und der Rückstand auf dem Wasserbade noch etwa 5 Minuten lang getrocknet. Der trockene Rückstand wird 3—4mal mit heißem Wasser ausgewaschen; das letzte Washwasser soll Chamäleonlösung nicht mehr entfärben. Der gereinigte Indigo wird nach dem Abgießen des Wassers mit 10 ccm konzentrierter Schwefelsäure aufgenommen und nach dem Verdünnen mit etwa 100 ccm destillierten Wassers mit Chamäleonlösung titriert. Es wird eine $\frac{1}{400}$ n-Chamäleonlösung empfohlen, von der 1 ccm = 0,155 mg Indigo entspricht.

Beurteilung.

Sofortiges Ausschütteln mit Chloroform nach dem Zusatz des Obermayerschen Reagens soll etwas höhere oder zu hohe Indigowerte geben. Kupfersulfat wird dem Eisenchlorid vorgezogen. Nach Imabuchi genügt das Auswaschen des abgeschiedenen Indigos mit heißem Wasser; das Behandeln mit Lauge nach Maillard wäre nicht notwendig.

Folin verwendet auch Kupfersulfat und vergleicht die Farbe des Chloroforms mit Fehling'scher Lösung.

2. Indicanbestimmung nach J. Bouma.³⁾

Prinzip.

Das im Harn vorhandene Indoxyl wird durch Isatinsalzsäure in Indigorot umgewandelt. Erforderliche Lösungen.

1. Eine Isatinsalzsäurelösung. 20 mg reinstes Isatin Merck wird in einem Liter chemisch reiner, vollkommen eisenfreier konzentrierter Salzsäure — 1,19 D — gelöst. Das Reagens muß jeden Monat frisch bereitet werden.
2. Eine Permanganatlösung; man verwendet sie — Bouma macht keine weiteren Angaben — in der Stärke, wie angegeben; sie darf nicht verdünnter als 1:20000 sein.

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1909. 60. 502.

²⁾ Ebenda. 1908. 57. 520.

³⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1901. 32. 82; 1903. 39. 356.

3. Die Einstellung der Permanganatlösung erfolgt nicht durch Oxalsäurelösung, sondern mit reinem synthetischem Indigorot der Badischen Anilin- und Sodafabrik in konz. Schwefelsäure. Das Indigorot wird genau abgewogen.

1 ccm der Permanganatlösung soll etwa 0,2 mg Indigo entsprechen.

Ausführung.

Den Indicangehalt eines Harnes kann man durch eine Vorprüfung mit Isatinsalzsäure auf colorimetrischem Wege annähernd feststellen. Man kocht das gleiche Volumen Harn und Reagens, je 5 ccm und schüttelt mit 2 ccm Chloroform aus. Dieses färbt sich bei indicanarmem Harn leicht rosarot, bei leichter Indicanurie schön purpurrot und bei indicanreichem Harn intensiv dunkel weinrot.

Im letzteren Falle wird man kleinere Harnmengen, 25–50 ccm, anwenden, außerdem nimmt man 300 ccm in Arbeit. Diese 300 ccm werden mit 30 ccm Bleiessig gefällt, ein abgemessener Teil des Filtrates (ich nehme 275 ccm = 250 ccm ursprünglichen Harnes) wird mit dem gleichen Volumen der Isatinsalzsäure versetzt und eine Viertelstunde auf dem kochenden Wasserbade erhitzt; nach dem Abkühlen wird die Flüssigkeit im Scheidetrichter, wie bei 1 angegeben, 3 mal mit je 30 ccm Chloroform ausgeschüttelt. Das Chloroformextrakt läßt man einige Minuten ruhig stehen, damit sich die Tröpfchen mechanisch mitgeführten Harnes an der Schale absetzen; die Lösung wird vorsichtig abgegossen, das Chloroform abdestilliert und der 2 Stunden lang bei 110°C getrocknete Rückstand zur vollkommenen Entfernung des im Überschuße vorhandenen Isatins, da dieses auch Chamäleon verbrauchen würde, einige Male mit heißem Wasser gewaschen. Der trockene Rückstand wird mit Schwefelsäure versetzt und mit Chamäleon titriert. Es wird sich auch hier die bei 1. angegebene Behandlungsweise empfehlen. Vor allem muß die Salzsäure vollkommen entfernt sein, da sie bekanntlich bei der Titration mit Permanganat wesentliche Störungen verursacht.

Wegen der Titration bemerkt Bouma, daß bei dieser der Verdünnungsgrad von 1 Indigorotdisulfosäure: 20,000 nicht überschritten werden darf, da man sonst zuviel Chamäleon verbraucht. (Ein größerer oder geringerer Indicangehalt wird aber durch die Vorprobe erkannt und berücksichtigt.) Weiter müssen die Titrierflüssigkeiten ganz klar sein, auch muß man mit dem Filtrieren vorsichtig sein, da das Filtrierpapier Farbstoffe zurückhalten kann (ich filtriere durch Asbest). Wenn die Flüssigkeit beim Titrieren eine braune Nuance annimmt (fein verteiltes Mangan-dioxyd), dann gibt man etwas starke Schwefelsäure hinzu.

Nach diesem Verfahren bekommt man natürlich doppelt soviel Indigorot, als dem Harnindigo entspricht, da ja die Hälfte des Indigomoleküls vom Isatin geliefert wird. Es ist also die Hälfte von dem gefundenen Werte in Rechnung zu stellen. Die Berechnung ist eine einfache, da der Wirkungswert der Permanganatlösung mit einer genau bekannten Indigomenge festgestellt wird.

Beurteilung.

Das Fällen des Harnes mit Bleiessig ist, wie bei dem Obermayerschen Verfahren, so auch hier von großer Wichtigkeit bei der titrimetrischen Bestimmung, da störende und reduzierende Stoffe dadurch entfernt werden.

3. Bei größerem Indicangehalte kann man die Chloroformlösung auf einem Uhrglase verdunsten und den Rückstand nach dem Trocknen bei 100° wägen.

4. Bestimmungsmethoden des Harnindicans für klinische Zwecke.

Die eben unter 1. und 2. angeführten beiden Methoden, die gute Resultate geben, können selbstverständlich nur im Laboratorium vorgenommen werden; auch sind sie etwas zeitraubend. Eine klinische Bestimmungsmethode muß, um praktisch verwertbar und verwendbar zu sein, einfach, schnell ausführbar und dabei doch annähernd genau sein.

Von den vielen das gleiche Prinzip — eine colorimetrische Bestimmung des Indicans — verfolgenden Verfahren möchte ich die beiden nachstehend aufgeführten, sowie die von Autenrieth und Funk angegebenen als die den gedachten Zweck am besten erfüllenden nennen und empfehlen.

a) Nach H. Strauss.¹⁾

Prinzip.

Die aus dem Harn gewonnene Indigolösung in Chloroform wird mit einer Vergleichslösung von Indigotin in Chloroform (1 mg: 1000 ccm), sogen. Testlösung (Teströhrchen) verglichen

¹⁾ Deutsch. med. Wochenschr. 1902. 29. 299; Schüttelröhrchen, Teströhrchen, Reagenzgläser sind bei P. Altmann, Berlin, Luisenstraße, zu haben.

und so lange mit Chloroform verdünnt, bis die Farbe mit der im Teströhrchen bei der Beobachtung gegen einen weißen Hintergrund übereinstimmt.

20 ccm Harn versetzt man mit 5 ccm einer 20%igen Bleizuckerlösung und füllt vom Filtrate 10 ccm = 8 ccm Harn in ein Schüttelröhrchen, das unten mit einem Glashahn, oben mit einem eingeschliffenen Glasstöpsel verschlossen und bei 5, 10, 15, 20 und 25 ccm Inhalt graduirt ist. Zu den 10 ccm des Filtrates (bis zur Marke 10 des Schüttelröhrchens) bringt man 10 ccm des Obermayerschen Reagens (Marke 20) und 5 ccm Chloroform (Marke 25) und dreht das Röhrchen in Zeitabschnitten von etwa 2—3 Minuten, besser von 10 Minuten mehrmals um, ein kräftiges Umschütteln aber vermeidend. Die Chloroformlösung läßt man nach dem Absetzen ablaufen und wiederholt in der angegebenen Weise und Menge den Chloroformzusatz und das Ausschütteln, bis das Chloroform nicht mehr gefärbt wird. Von den in einem graduirten Zylinder vereinigten, gut durchgemischten Chloroformauszügen, die man in der bei 1. angegebenen Weise reinigen kann, bringt man mit der Pipette 2 ccm in ein Reagenzglas von gleicher Dicke des Glases und der gleichen Größe, wie das die Kontrolllösung (Testlösung) enthaltende Gläschen und verdünnt den Chloroformauszug (die 2 ccm) nun so lange mit genau gemessenen Mengen Chloroform, bis dadurch die Farbe auf die gleiche Intensität, wie im Teströhrchen gebracht ist; man betrachtet die Lösungen gegen einen weißen Hintergrund (weißes Papier). Beträgt die Gesamtmenge der Chloroformextrakte x ccm und die Menge des Chloroforms, das sich am Schluß der Verdünnung in dem zum Vergleiche mit dem Teströhrchen dienenden Reagenzglase befindet, y ccm, so erhält man als Zahl für die zur Erreichung der Testfarbe notwendige Chloroformmenge für das in der benutzten

$$\text{Harnmenge enthaltene Indigoblau} = x \cdot \frac{y}{2}.$$

Dadurch, daß die Testlösung eine bekannte Menge chemisch reinen Indigotins (Kahlbaum, Merck) — 1 mg Indigotin auf 1000 ccm Chloroform — enthält, ist man imstande, den gesamten Indicangehalt eines innerhalb eines bestimmten Zeitraumes gelassenen Urins quantitativ in Milligrammen anzugeben, wenn man die in diesem Zeitraume entleerte Urinmenge der Berechnung zugrunde legt und beachtet, daß der bei der Untersuchung gewonnene Chloroformwert sich nicht auf 10 ccm, sondern auf 8 ccm Urin bezieht. Oder: Wurden zur Ausschüttelung der 8 ccm Harn x , zur Verdünnung der 2 ccm des Auszuges y ccm Chloroform verbraucht, so ist $x \cdot \frac{y}{2}$ der Chloroformwert, aus dem die Indigomenge leicht zu berechnen ist, wobei man in Betracht zu ziehen hat, daß die Testlösung 0,001 g chemisch reines Indigotin in 1000 ccm enthält und daß 8 ccm Harn zur Reaktion verwendet wurden.

$$1000 : 0,001 = x \cdot \frac{y}{2} : x.$$

Die Testlösung, das Teströhrchen, ist im Dunkeln zu verwahren.

Während der Indicangehalt normalen Urins meist schon mit der ersten oder zweiten Extraktion erschöpft war und einem Chloroformwerte von 5—10 ccm entsprach, wurden bei Fällen von tuberkulöser Peritonitis, bei akuter eitriger Peritonitis, bei Magencarcinom, Typhus Chloroformextraktwerte von 150, 120, 50—80 ccm gefunden.

b) Nach J. Bouma.¹⁾

Die Bestimmung beruht auf dem schon erwähnten Prinzip. Bouma hat ein sog. Indicanurometer zusammengestellt, das aus elf in einer Reihe geordneten Reagenzröhrchen von gleichem Durchmesser und gleicher Wanddicke besteht. Sechs dieser Röhrchen enthalten eine Lösung von aus Harn bereitetem Indigorot in Chloroform von verschiedener Stärke, die der Reihe nach übereinstimmt mit einem Gehalte des Harnes an Indigo von 5, 10, 15, 20, 30, 40 mg im Liter. Die Röhrchen sind zugeschmolzen und dienen als Vergleichslösungen; sie müssen im Dunkeln verwahrt werden. Man kann sich diese Vergleichsflüssigkeit selbst herstellen. Man isoliert nach Boumas Methode aus Harn das Indigorot oder verwendet solches synthetisch dargestelltes. Man löst davon 80 mg im Liter Chloroform und bewahrt diese Lösung in einer dunklen, wohlverschlossenen Flasche im Dunkeln auf. Beim Gebrauche pipettiert man von dieser Lösung in sechs Reagenzröhrchen von gleichem Durchmesser und gleicher Wandstärke 10, 7,5, 5, 3,75, 2,5 und 1,25 ccm und füllt die letzten fünf Röhrchen mit Chloroform zu 10 ccm auf. Man versieht am zweckmäßigsten die sechs Gläschen mit den Zahlen I—VI und mit entsprechenden Marken, so daß man sich das Abpipettieren ersparen kann. Man hat nun in den sechs Gläschen Lösungen, die einem Gehalte an Indigorot im Liter Harn zu 40 mg (I), 30 mg (II), 20 mg (III), 15 mg (IV), 10 mg (V) und 5 mg (VI) entsprechen, wobei bemerkt sein mag, daß in diesen sechs Röhrchen nicht der wirkliche Gehalt an Indigo, sondern nur die Hälfte angegeben ist, da wir ja nach dieser Methode doppelt so viel Indigorot bekommen, als dem Harnindigo entspricht, weil, wie schon erwähnt, die Hälfte des Indigomoleküls vom Isatin geliefert wird.

¹⁾ Siehe S. 376.

10 ccm Harn werden mit 2 ccm Bleiessig gefällt. Vom klaren Filtrate gibt man $5\frac{1}{2}$ ccm (= 5 ccm Harn) in ein passendes Reagenzglas und fügt 10 ccm Isatinsalzsäure hinzu. Man erhitzt bis zur Siedehitze und kocht noch einige Sekunden; man kühlt das Reagenzglas ab und schüttelt den Inhalt tüchtig mit 5 ccm Chloroform aus. Wird nun diese Chloroformlösung mit den 6 Lösungen verglichen und zeigt es mit einer dieser Lösungen gleiche Farbenintensität, so wird uns angezeigt, daß der untersuchte Harn so viel Indican enthält, als dem im betreffenden Gläschen vorhandenen bekannten Gehalte entspricht und wir erfahren unmittelbar die in einem Liter des untersuchten Harnes vorhandene Indicanmenge; z. B. es stimmt die Chloroformlösung an Farbenintensität mit der Lösung im Glase III zusammen; wir wissen dann, daß in 1 Liter des untersuchten Harnes 20 mg Indican vorhanden sind.

Man kann selbstverständlich mit einem Teströhrchen und Verdünnen der Chloroformlösung, wie bei a) angegeben, auch hier den Indicangehalt bestimmen.

Nach weiteren Untersuchungen von J. Bouma¹⁾ kann es hie und da vorkommen, daß die Farbe des Chloroformextraktes nicht rein rot, sondern offenbar infolge der Anwesenheit oxydierender Substanzen durch Bildung von Indigoblau violett oder blau ist; dadurch wird der colorimetrische Vergleich mit der Standardlösung erschwert und ungenau. Diese Oxydation wird verhindert, wenn bei solchem Harn das nach der Bleiessigfällung erhaltene Filtrat zunächst 15 Minuten lang mit einem langsamen Strome von Schwefelwasserstoff behandelt wird. Das Filtrat vom Bleisulfid ist dann erst, wie angegeben, mit der Isatinsalzsäure zu kochen.

Beurteilung.

H. P. T. Oerum²⁾ findet die Boumasche Methode als die eleganteste und beste. Nach den Auffassungen von Bouma, Maillard und Ellinger, daß die roten, durch Oxydation des Indoxyls auftretenden Farbstoffe so gut wie das Indigoblau zur Indigogruppe gezählt werden müssen, hat man nach Oerum die Indigorotmethode zu wählen.

Er empfiehlt die Benutzung des Meislingschen Polarisationspolarimeters, wobei die Anwendung von Farbstofflösungen (Teströhrchen) in Wegfall kommt.

c) Mit dem Kolorimeter Autenrieth-Königsberger. W. Autenrieth und J. Königsberger³⁾, dann W. Autenrieth und A. Funk⁴⁾ haben Verfahren ausgearbeitet; die genaue Gebrauchsanweisung zur Vornahme dieser kolorimetrischen Bestimmungen wird dem Kolorimeter beigegeben.

d) A. Jolles⁵⁾ gründet auf den von ihm empfohlenen qualitativen Nachweis eine quantitative kolorimetrische Bestimmung. Die dort S. 373 angegebene Reaktion ist nach Jolles auf die Bildung des salzsauren Salzes einer Verbindung von cörolignonartiger Konstitution zurückzuführen und zwar des 4-Cymol-2-indolindolignons, die infolge der Oxydation aus 1 Mol. Indoxyl und 1 Mol. Thymol entsteht und rote, bei 218–220° schmelzende Krystalle darstellt.

5–10 ccm des mit $\frac{1}{10}$ seines Volumens an Bleiessig versetzten Harnes werden mit den entsprechenden Mengen alkoholischer Thymollösung und eisenchloridhaltiger Salzsäure versetzt, gut gemischt und 2 Stunden stehen gelassen (S. 373).

Man extrahiert die Harnflüssigkeit in der üblichen Weise mit Chloroform, bis die letzte Ausschüttelung farblos erscheint. Durch Schütteln mit destilliertem Wasser wird der Chloroformausschüttelung die Salzsäure entzogen, die Chloroformlösung wird mit Chloroform auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt und der Gehalt an Indolignon kolorimetrisch bestimmt.

Als Standardlösungen verwendet man eine Lösung von 0,01 g 4-Cymol-2-indolindolignon in 100 ccm Chloroform, die gut haltbar ist und zu einzelnen colorimetrischen Bestimmungen entsprechend verdünnt wird.

L. Montfét⁶⁾ gibt zur Bestimmung des Indigos eine Methode an, die auf der Umwandlung des Indigos in Pikrinsäure beruht. 100 ccm Salzsäure, 100 ccm Harn und 100 ccm Wasser werden auf 50° erwärmt; man schüttelt diese Mischung mit 40–50 ccm Chloroform aus, dampft das Extrakt ein und kocht mit 10%iger Salpetersäure. Die entstandene Pikrinsäure wird mit Pottasche versetzt und mit einer Kaliumpikratlösung von bekanntem Gehalte colorimetrisch verglichen. 140 T. Indigotin = 100 T. Pikrinsäure.

Die verschiedenen zur quantitativen Bestimmung des Harnindicans angegebenen Verfahren sind von O. Sammet⁷⁾ besprochen worden.

¹⁾ Deutsch. med. Wochenschr. 1902. 28. 705.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1905. 45. 459.

³⁾ Münch. med. Wochenschr. 1910. 57. 1001.

⁴⁾ Ebenda. 1912. 59. 689.

⁵⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1915. 94. 79; Biochem. Zeitschr. 1915. 68. 347.

⁶⁾ Compt. rend. soc. biolog. 1903. 55. 1251; Zeitschr. analyt. Chem. 1904. 43. 658.

⁷⁾ Pharm. Zentralh. 1913. 53. 581.

Eigenschaften des Indols.

Das Indol krystallisiert aus heißer wässriger Lösung, besser und schöner aus Ligroin, in Blättchen, die bei 52° schmelzen und die leicht in heißem, schwerer in kaltem Wasser löslich sind. Wird Indol in hochsiedendem Ligroin im Wasserbade gelöst und wird diese Lösung mit einer Lösung von Pikrinsäure in Benzol versetzt, so scheidet sich Indolpikrat in prächtigen roten Nadeln aus; aus dieser Verbindung kann durch Kochen mit Wasser unter Durchleiten von Wasserdämpfen (am besten nach Zusatz von etwas Ammoniak) Indol im Destillate erhalten werden.

Nachweis.

1. Die wässrige Indollösung wird mit Salpetersäure und einigen Tropfen sehr verdünnter Kaliumnitritlösung (0,02) versetzt sehr schön rot (salpetersaures Nitrosoindol); der Farbstoff ist in Alkohol löslich und krystallisiert nach Ätherzusatz aus (Baeyer).
2. Indollösung mit Nitroprussidnatrium bis zur Gelbfärbung versetzt, wird nach tropfenweisem Zusatze von Natronlauge violett, nach vorsichtigem Zusatze von verdünnter Salzsäure oder von Eisessig schön blau.
3. Ein in starke Salzsäure getauchter Fichtenspan färbt sich, in wässrige Indollösung gebracht, kirschrot (Baeyer).

Eigenschaften des Indoxyls.

Beim Behandeln der Indoxylschwefelsäure mit Salzsäure oder durch Erhitzen von Indigoblau mit ganz konzentriertem Kali wird das Indoxyl als braunes stinkendes Öl erhalten; dieses ist wenig beständig und scheidet bei Luftabschluß schnell und reichlich Indigo ab. In alkalischer Lösung vereinigt sich das Indoxyl mit Isatin nach Natriumcarbonatzusatz zu Indigo-rot (Indirubin). Im krystallinen Zustande wurde das Indoxyl von D. Vorländer und B. Drescher¹⁾ dargestellt; es bildet gelbe flache Prismen vom Schmelzpunkte 85° ; es löst sich in Wasser, Alkohol, Äther, Chloroform, Eisessig, Benzol, leicht in Aceton, wenig in Petroläther. Die wässrige Lösung fluoresciert. Die Fluorescenz verschwindet auf Zusatz von Kalilauge oder Salzsäure im Überschuß, nicht von Sodalösung. Indoxyl ist durch seine leichte Oxydierbarkeit ausgezeichnet, worauf sein Nachweis beruht. Beim Erwärmen von Indoxyl in konzentrierter Kalilösung mit pyroschwefelsaurem Kali erhält man das indoxylschwefelsaure Kali in blendend weißen Tafeln, die in Wasser leicht, in Alkohol schwer löslich sind. Wird das Indoxyl schnell erhitzt, sublimiert Indigo; bei Luftabschluß erhitzt, wird das Indoxyl zu einem braunen Körper, Indoxylrot, umgewandelt.

Eigenschaften des Indigoblaus.

Das Indigoblau bildet ein dunkelblaues, amorphes Pulver oder mikroskopisch zu erkennende Krystalle; aus dem Harne setzt es sich sogar manchmal

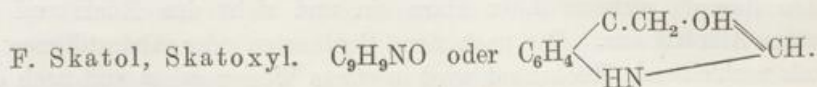
¹⁾ Berl. Bericht. 1901. 34. 1856; 1902. 35. 1701.

in Nadeln ab; in dicken Massen zeigt es kupferroten Metallglanz und sublimiert mit violetter, jodähnlichem Dampf, der sich im Röhrchen an den kälteren Stellen in rhombischen Krystallen absetzt.

Das Indigoblau ist unlöslich in Wasser, wenig löslich in heißem Alkohol und in Äther, leicht löslich in Chloroform. In der Wärme ist es in fetten Ölen, Benzol, Phenol löslich, auch in kalter Schwefelsäure löst sich das Indigoblau auf.

Durch Reduktionsmittel (Zinnchlorür, Natronlauge und Eisenvitriol usw.) geht das Indigoblau in Indigweiß über; die Lösungen des Indigos in Chloroform und in Schwefelsäure zeigen einen Absorptionsstreifen zwischen C und D, bei konzentrierten Lösungen über D noch hinausgehend.

Die rote Substanz, die in Chloroform löslich ist und im Harne an der Luft unter Einwirkung von Salzsäure sich bildet, ist Indirubin; dieses löst sich im Chloroformextrakte nicht mehr in Wasser; nach den Untersuchungen von L. C. Maillard¹⁾ entsteht dieses aus den Indoxylderivaten bei langsamer, das Indigoblau bei augenblicklicher Oxydation.



Nach den eingehenden Untersuchungen von L. C. Maillard¹⁾ ist im Harne kein Farbstoff vorhanden, der die sogenannte Skatoxylgruppe enthält, z. B. Skatoxylschwefelsäure (Skatoxylglykuronsäure); Maillard hat auch gezeigt, daß ein solches mit Indoxyl homologe Skatoxyl mit der bekannten Struktur der ganzen Indolgruppe unvereinbar wäre.

J. Ph. Staal²⁾ konnte die Ansicht Maillards bestätigen. Indigorot und das sogenannte Skatolrot sind nicht identisch; letzteres ist kein Skatolderivat im chemischen Sinne des Wortes, sondern ist vielmehr identisch mit dem Urorosein (s. d.) von Nencki und Sieber. Das Chromogen des sog. Skatolrotes im normalen Menschenharne ist keine gepaarte Schwefelsäure oder Glykuronsäure.

Die Meinung, daß reichliche Mengen von Skatoxyl im Harne enthalten sind, wenn bei der sog. Indicanprobe eine violette Chloroformlösung entsteht, oder wenn die Harne nach Zusatz von Salzsäure allein dunkelrot bis violett, nach Zusatz von Salpetersäure kirschrot und beim Stehen an der Luft von der Oberfläche aus rotviolett bis schwarz sich färben, ist als richtig noch nicht erwiesen. Diese Färbung soll durch anderweitige Farbstoffchromogene veranlaßt werden. Daß Derivate des Skatols im Harne vorkommen werden, ist ja nicht ausgeschlossen.

¹⁾ Chem. Ztg. 1901. 25. 415 u. L'indoxyle urinaire et les couleurs qui en dérivent. Paris 1903. Schleicher Frères u. Zeitschr. physiol. Chem. 1905. 46. 514.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1905. 46. 236.