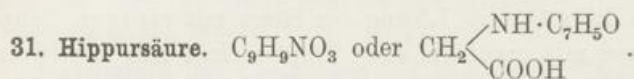


3. Beim Erhitzen einer Spur Benzoesäure mit einigen Tropfen Alkohol und einem Tropfen konz. Schwefelsäure tritt der aromatische Geruch des Benzoesäure-Äthylesters auf, besonders deutlich nach Zusatz von Wasser und nochmaligem Erhitzen.

Eigenschaften.

Sublimiert bildet die Benzoesäure farblose, glänzende Nadeln, aus ihren Salzen abgeschieden Schuppen, schmale Säulen. Reine Benzoesäure schmilzt bei 121—122°.

In kaltem Wasser ist sie schwer löslich, leicht löslich ist sie in Alkohol, Äther, Essigäther, schwerer löslich in Petroläther.



Die Hippursäure, Benzoylglykokoll oder Benzylaminoessigsäure findet sich im normalen Harn besonders reichlich nach Genuß von Obst, von Heidelbeeren, Erdbeeren, Preiselbeeren, auch nach Einnehmen von Benzoesäure, Chinasäure, Salicylsäure und Zimtsäure, die in Hippursäure umgewandelt werden. Pflanzenfresser scheiden reichliche Mengen aus, durch die aromatischen Substanzen der Nahrung bedingt. Vermehrt ist sie bei der Darmfäulnis, bei intensiver Darmgärung, im Fieber; die Muttersubstanz bilden hier möglicherweise die aromatischen Bestandteile des Eiweißes (vielleicht des Phenylalanins); die bei der Gärung gebildeten Benzolderivate werden, wie schon erwähnt, teils durch Oxydation und Paarung mit Schwefelsäure oder Glykuronsäure, aber auch noch durch weitergehende Oxydation in Benzoesäure bzw. substituierte Benzoesäuren unschädlich gemacht, die wieder mit Glykokoll gepaart Hippursäure bilden. Sie kommt zu 0,1—1,0 g je nach der Nahrung in der Tagesmenge Harn vor. Nach reichlichem Genuß von Gemüse, Obst kann sie auf mehr als 2 g ansteigen. Auch in Sedimenten findet sich die Hippursäure, wenn auch selten, so bei Diabetes, bei Ikterus, bei Leberkrankheiten.

Darstellung.

Die Isolierung ist für den Nachweis und die Bestimmung der Hippursäure erforderlich; mit dieser Herstellung kann auch die quantitative Bestimmung verbunden werden. Es muß möglichst frischer Harn genommen werden, da bei der Einwirkung von gewissen Bakterien sich die gleiche Zersetzung vollzieht, wie beim Kochen der Hippursäure mit Säuren, es tritt eine Spaltung in Glykokoll und Benzoesäure ein.

1. Man macht den Harn (etwa 1 Liter) mit kohlensaurem Natron alkalisch, konzentriert das Filtrat bis fast zur Trockne und zieht den Rückstand mit absolutem Alkohol wiederholt aus. Der Verdunstungsrückstand von der Alkohollösung (man destilliert den Alkohol ab) wird in Wasser gelöst, die Lösung des hippursäuren Natrons mit Schwefelsäure angesäuert und

wiederholt (etwa 5mal) mit Essigäther ausgeschüttelt. (G. Rem-Picci¹⁾ empfiehlt, den Harn mit Bariumchlorid und Barythydrat auszufällen und das mit Salzsäure angesäuerte Filtrat ebenfalls mit Essigäther zu extrahieren. Weitere Behandlung, wie folgt.) Der abgehobene Essigäther wird im Scheidetrichter mit wenig Wasser oder besser mit Kochsalzlösung ausgeschüttelt, der Essigäther vorsichtig bei einer 50° nicht übersteigenden Temperatur unter Vermeidung saurer Reaktion abdestilliert, dann ganz verjagt und der Rückstand zur Entfernung von Benzoesäure, Phenol, Fett usw. mehrere Male mit Petroläther behandelt, der die Hippursäure ungelöst zurückläßt. (Nach K. Spiro²⁾ muß bei der Behandlung mit Petroläther der Rückstand völlig getrocknet sein, was man durch geschmolzenes Glaubersalz erreicht.) Diese wird in warmem Wasser gelöst, mit etwas Tierkohle entfärbt und bei 50° zur Krystallisation gebracht. Die Krystalle werden gesammelt und gewogen. (Methode nach G. Bunge und O. Schmiedeberg.)³⁾

Die von V. Henriques und S. P. L. Sörensen angegebene Methode der Bestimmung wurde bereits bei der der Aminosäuren S. 149 ausführlich besprochen. Sie beruht darauf, daß die Hippursäure durch Kochen mit Salzsäure zerlegt und das Glykokoll nach der Formelmethode bestimmt wird. Es kann auch der Benzoesäuregehalt ermittelt werden.

2. H. Wiener⁴⁾ und R. Cohn⁵⁾ benützen zum Nachweise und zur Bestimmung die Spaltbarkeit der Hippursäure durch Natronlauge in Benzoesäure. Der eingedampfte Harn wird 3mal mit kochendem Alkohol extrahiert, dieser abfiltriert und das Filtrat vom Alkohol vollständig befreit. Der mit recht wenig Wasser aufgenommene Rückstand wird im Scheidetrichter nach dem Abkühlen und nach dem Ansäuern mit konz. Salzsäure 4mal mit größeren Mengen Äther ausgeschüttelt. Der Äther mit der darin gelösten und suspendiert enthaltenen Hippursäure wird nach dem Absetzen der letzteren filtriert (durch Asbest, Spaeth), die ausgeschiedene Hippursäure nachgewaschen und der Äther in dem die abgeschiedene Hippursäure enthaltenden Erlenmeyerkolben abdestilliert. Dieser Rückstand mit dem Asbestfilter wird nun 4mal mit größeren Mengen leichtsiedenden Petroläthers am Rückflußkühler ausgekocht und so die freie vorhandene Benzoesäure entfernt. Der verbliebene salzsaure wässrige Rückstand von der Ätherausschüttelung wird zu dem von der Petrolätherbehandlung in den Erlenmeyerkolben gebracht, der Äther durch Erwärmen verjagt und nach dem Zusatz der mindestens 3fachen Menge konz. Salzsäure zur Spaltung der Hippursäure 5 Stunden auf dem Sandbade erhitzt. Man kühlt ab, schüttelt die gebildete, manchmal zum Teil schon ausgeschiedene Benzoesäure 4mal mit Äther aus, destilliert Äther sowie Petroläther (s. oben) im gewogenen Kölbchen ab, trocknet im Exsiccator und wägt die gebundene, wie die freie vorhandene Benzoesäure.

3. Löbisch verfährt nach Cazeneuve und dampft den Harn ein, versetzt mit Essigsäure (5 cem) und gibt dann so viel Gipspulver hinzu, bis die ganze Masse feinpulverig geworden ist; die Masse extrahiert man in einer sog. Papierpatrone mit Äther im Soxhletschen Apparat. Man erhält ein nur schwach gefärbtes Ätherextrakt, das man, wie angegeben, weiter behandelt.

Ein ähnliches Verfahren gibt O. Völker an unter Verwendung von Natriumphosphat.

H. D. Dakin⁶⁾ beschreibt eine dem Verfahren von Bunge und Schmiedeberg ziemlich ähnliche Methode des Nachweises.

4. O. Folin und F. F. Flanders⁷⁾ bestimmen die aus der Hippursäure gewonnene Benzoesäure.

100 cem Harn werden mit 10 cem 5%iger Natronlauge versetzt und auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft. Mit 25 cem Wasser und 25 cem konz. Salpetersäure bringt man den Rückstand in einen Kolben mit Rückflußkühler und kocht 4½ Stunden lang unter Zusatz von 0,2 g Kupfernitrat, um Farbstoffe und dergl. zu zerstören; man schüttelt den auf 100 cem gebrachten Kolbeninhalt nach dem Sättigen mit Ammoniumsulfat (etwa 55 g) in einem Scheidetrichter mehrmals mit reinem Chloroform aus, wäscht die vereinigten Chloroformauszüge mit

¹⁾ Archiv d. farmac. speriment. e scienc. affin. 1902. 1. 7; Jahresber. Tierch. 1902. 32. 316.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1899. 28. 174.

³⁾ Archiv. exp. Patholog. Pharmacol. 1877. 6. 235.

⁴⁾ Archiv. exp. Patholog. Pharmacol. 1899. 40. 313.

⁵⁾ Festschrift für Jaffé, Braunschweig, Vieweg & Sohn. 1901. 319.

⁶⁾ Journ. of biol. Chem. 1909. 7. 103.

⁷⁾ Journ. of biol. Chem. 1912. 11. 257.

* Spaeth, Untersuchung des Harnes. 5. Aufl.

einer gesättigten, im Liter 0,5 g Salzsäure enthaltenden Natriumchloridlösung aus und titriert die in der Chloroformlösung enthaltene Benzoesäure mit $\frac{n}{10}$ Natriumalkoholatlösung und Phenolphthalein als Indikator.

Die Alkoholatlösung wird durch Auflösen von 2,3 g reinem Natrium in 1 Liter absolutem Alkohol hergestellt und auf eine Lösung von Benzoesäure in Chloroform eingestellt.

Verfahren, die auch auf der Überführung in Benzoesäure und der Bestimmung dieser beruhen, geben an Th. Hryntschak¹⁾, W. Wiechowski²⁾, Y. Seo³⁾, E. Filippi⁴⁾, Th. Pfeifer, C. Bloch u. R. Riecke⁵⁾.

Eigenschaften und qualitativer Nachweis.

Die Hippursäure krystallisiert in rhombischen, halbdurchsichtigen milchweißen Prismen, an den Enden in zwei oder vier Flächen auslaufend (s. Sedimente), die Ähnlichkeit mit dem Tripelphosphat (s. Sedimente) haben, sich von diesem aber durch das chemische Verhalten unterscheiden. Die Hippursäure löst sich schwer in kaltem, leicht in heißem Wasser und besonders leicht in Essigäther auf. In Petroleumäther, in Benzol ist sie unlöslich. Sie schmilzt bei 187,5°.

Die Verbindungen der Hippursäure mit Alkalien und alkalischen Erden sind in Wasser und Alkohol löslich, die Metallsalze schwer löslich. Kennzeichnend ist das isabellenfarbene hippursäure Eisenoxyd. Beim Kochen mit Säuren, Laugen oder bei längerem Erhitzen auf 170—180° zerfällt sie in Benzoesäure und Glykokoll, ebenso durch alkalische Harn gärung (*Micrococcus ureae*) und durch viele Staphylo- und Streptokokken (Seo).

Nachweis.

1. Mit konzentrierter Salpetersäure gekocht und eingedampft, gibt der erhitzte Rückstand Nitrobenzolgeruch (Lücke).

Beurteilung.

Diese Reaktion geben allerdings auch die Benzoesäure und andere Säuren der aromatischen Reihe.

2. Erhitzt man etwas Hippursäure im Reagenzglase für sich, so schmilzt die Hippursäure zu einer öligen Flüssigkeit (Unterschied von Benzoesäure). Beim stärkeren Erhitzen sublimiert unter Rotfärbung (von der Zersetzung des Glykokolls herrührend) Benzoesäure, zuletzt tritt ein Geruch nach Blausäure auf.
3. Zur Erkennung sehr kleiner Mengen empfiehlt K. Spiro⁶⁾ die Lactimidprobe.

Die, wie unter 1. angegeben, gewonnene möglichst reine Hippursäure (ein Molekül) wird mit drei Molekülen Essigsäureanhydrid gelöst und ein Molekül vollkommen wasserfreies, geschmolzenes essigsäures Natrium dazugegeben. Setzt man nun ein Mol.-Gew. Benzaldehyd dazu und erwärmt eine halbe Stunde im Wasserbade, so färbt sich die Flüssigkeit gelblich bis dunkelgelb und erstarrt

¹⁾ Biochem. Zeitschr. 1912. 43. 315.

²⁾ Hofmeisters Beiträge. 1905. 7. 265.

³⁾ Archiv exp. Patholog. Pharmacol. 1908. 58. 442.

⁴⁾ Archiv Pharmacolog. experim. 1918. 26. 243.

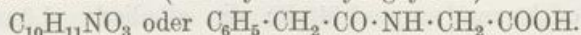
⁵⁾ Mitt. d. landw. Inst. Univ. Breslau 1902. 2. 273.

⁶⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1899. 28. 174.

beim Abkühlen zu einem Krystallbrei aus netzartig durcheinander gelagerten oder wawellitähnlich angeordneten gelblichen Nadelchen, die durch Waschen mit Alkohol von Bittermandelöl befreit und durch Krystallisation aus heißem Alkohol und Benzol leicht gereinigt werden können. Es entsteht das Laktimid der Benzoylaminozimtsäure. Schmelzpunkt 165—166°.

4. Zum Nachweis im Harn direkt kann man nach W. M. Dehn einige ccm Harn mit soviel Natriumhypobromit versetzen, als nötig ist zur Zersetzung des Harnstoffes und zur bleibenden Gelbfärbung der Mischung. Beim Erhitzen zum Sieden entsteht ein orangefarbener oder braunroter Niederschlag, bei Spuren nur eine schwach rote Färbung.

32. Phenacetursäure. (Phenyl-acetyl-glycin.)



Diese Säure ist regelmäßig im Pferdeharn vorhanden. Zeitweilig soll sie im Harn des Menschen vorkommen; sie entsteht im Organismus durch Paarung aus der bei der Fäulnis von Eiweiß im Darm (Bakterienwirkung) entstehenden Phenylelessigsäure mit Glykokoll. Die Phenacetursäure ist schwer von der Hippursäure zu trennen; auch kommt sie wohl selten im Harn in einer solchen Menge vor, daß sie mit Sicherheit isoliert werden könnte.

Eine Bestimmung der Benzoesäure, Hippursäure und Phenacetursäure im Harn gibt H. Steenbock¹⁾ an.

Eigenschaften.

Bildet kleine, dicke, rhombische, bei 143° schmelzende Tafeln. Das Verhalten ist ähnlich dem der Hippursäure.

33. Gallensäuren (s. diese).

34. Aromatische Oxysäuren.

Sie entstehen zum größten Teile bei der bakteriellen Zersetzung von Eiweiß, beim Abbau bestimmter Aminosäuren, Tyrosin, im Darm oder in den Geweben (Gewebszerfall); sie wurden von E. und H. Salkowski und E. Baumann im Harn aufgefunden. Die aromatischen Oxysäuren sind im allgemeinen entsprechend den Phenolen vermehrt. Sie werden gleich diesen entweder in der Leber durch ihre Verbindung mit Schwefelsäure entgiftet oder sie durchwandern als solche den Organismus. Doch kommt nur ein kleinerer Teil als Ätherschwefelsäure, also gepaart, der größere als freie Säure vor. Im normalen Harn wurden die Paraoxyphenylelessigsäure und die Paraoxyphenylpropionsäure gefunden, die ungefähr zu 0,001—0,002% vorkommen; im phenolreichen pathologischen Harn (nach akuter Phosphorvergiftung) sind sie sehr vermehrt, ebenso nach F. Blumenthal im Fieber und bei starker Darmfäulnis.

Zu den aromatischen Oxysäuren gehören noch die Oxymandelsäure (bei der Zerstörung des Lebergewebes auftretend), die Oxyhydroparacumarsäure, die Gallussäure und die Homogentisinsäure.

¹⁾ Journ. of biol. Chem. 1912. 11. 201.