

## Zur Kenntniss der Oxydation aromatischer Substanzen im Thierkörper.

Von C. Preusse.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiolog. Instituts zu Berlin.)  
(Der Redaktion zugegangen am 18. Dezember 1880.)

In einer früheren Arbeit haben Baumann und ich<sup>1)</sup> gezeigt, dass das in den Thierkörper eingeführte Phenol durch Oxydation zu einem gewissen Theile in Brenzcatechin und Hydrochinon übergeht, welche im Harn als Aetherschwefelsäuren ausgeschieden werden, zu einem anderen Theile aber, wie es scheint, einer weiteren Oxydation unterliegt, durch welche die dunkel gefärbten Körper des Carbolharnes entstehen.

Nencki und Giacosa<sup>2)</sup> haben in jüngster Zeit diese Beobachtung in so fern bestätigt, als sie fanden, dass auch nach Eingabe von Benzol im menschlichen Harn Brenzcatechin und Hydrochinon auftreten. Bekanntlich haben Schultzen und Naunyn<sup>3)</sup> zuerst gezeigt, dass Benzol im Organismus zum Theil zu Phenol oxydirt wird; ähnliche Oxydationen haben ferner Baumann und Herter<sup>4)</sup> an verschiedenen Abkömmlingen aromatischer Kohlenwasserstoffe beobachtet, und vor Kurzem haben Nencki und Giacosa<sup>5)</sup> gefunden, dass das Isopropylbenzol und die beiden Isobutylbenzole im Organismus z. Th. gleichfalls in Phenole übergeführt werden. Seit längerer Zeit bin ich ebenfalls mit der Untersuchung über die Oxydation von aromatischen Substanzen im Thier-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. III, S. 156.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. IV, S. 336.

<sup>3)</sup> Reichert und Du Bois-Reymond's Archiv i. J. 1867.

<sup>4)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. I. S. 244.

<sup>5)</sup> A. a. O.

körper beschäftigt; die Ergebnisse derselben sollen in Nachstehendem zusammengefasst werden.

Eine Reihe von Versuchen war darauf gerichtet, festzustellen, in welcher Weise die Oxydation bei Phenolen stattfindet, welche neben dem Phenolhydroxyl in der Seitenkette Methylgruppen enthielten, und zu ermitteln, ob isomere Verbindungen von solcher Zusammensetzung gleichartige Oxydationsprodukte liefern. Die für die Beantwortung dieser Frage geeignetsten Verbindungen sind ohne Zweifel die drei isomeren Kresole. Ueber das Verhalten derselben im Organismus liegen bereits einige Angaben vor. Nach Baumann's<sup>1)</sup> Versuchen geht das Parakresol im Organismus zum grössten Theile in die Aetherschwefelsäuren des Parakresols über, während ein kleinerer Theil zu Paroxybenzoësäure oxydirt wird; dagegen hatten vorläufige Versuche mit Orthokresol ergeben, dass dasselbe im Thierkörper zwar eine Oxydation erleidet, dabei aber nicht in Salicylsäure übergeführt wird.

Da Baumann in seiner Mittheilung die von ihm gefundenen Körper nicht analysirt und die Natur des Oxydationsproduktes nicht genau festgestellt hat, so habe ich bei dieser Gelegenheit gern die weitere Ausführung dieser Versuche übernommen und zugleich das dritte isomere Kresol in gleicher Richtung geprüft. Die Kresole wurden nach den Angaben von Tiemann und Schotten<sup>2)</sup> dargestellt und in Mengen von 1—3 gr. täglich an kräftige Hunde verfüttert.

#### Versuche mit Parakresol.

Es wurden im Ganzen während einer Woche einem kräftigen Hunde ca. 15 gr. Parakresol in den Magen gebracht. Der gesammelte Harn wurde eingedampft, mit starker Salzsäure bis zur Zersetzung der Aetherschwefelsäuren erwärmt und mit Aether ausgezogen.

Nach dem Verdunsten des Aethers hinterblieb ein Rückstand, der stark sauer reagirte. Derselbe wurde mit Natriumcarbonat neutralisirt: dabei schied sich neben Parakresol ein

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. III, S. 250.

<sup>2)</sup> Berichte d. deutsch. chem. Gesellschaft, Jahrg. XI, 767.

harziger, nicht flüchtiger Körper ab, welcher sich in Natriumhydroxyd mit brauner Farbe löste, aber nicht rein erhalten werden konnte. Die neutrale Flüssigkeit wurde vom Parakresol durch Filtriren getrennt, durch Schütteln mit Aether von gelösten Phenolen befreit, angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt. Der Aether hinterliess nach dem Verdunsten Krystalle. Dieselben wurden in Wasser gelöst, mit Bleiacetat versetzt; der Niederschlag wurde abfiltrirt und das Filtrat mit Schwefelwasserstoff entbleit. Die klare Lösung gab beim Verdunsten schwach gelbe Krystalle einer Säure, welche die Eigenschaften der Paroxybenzoësäure zeigte: Schmelzpunkt 209—210° C.

#### Analyse:

	gefunden	berechnet
C	60,44%	60,87%
H	4,79 »	4,28 »

#### Krystallwasser:

11,0 %	11,5 %.
--------	---------

Der grössere Theil des Parakresols war, wie Baumann und Herter<sup>1)</sup> früher zeigten, in Aetherschwefelsäure übergegangen; es wurde daher dieses Verhalten nicht weiter verfolgt. Die Menge der reinen Paroxybenzoësäure, welche aus dem Harn gewonnen wurde, betrug 1,5 gr.

#### Versuche mit Orthokresol.

Ein grosser Hund erhielt pro die 2—3 gr. reines Orthokresol 8 Tage lang in den Magen. Der gesammelte Harn wurde in derselben Weise verarbeitet wie der nach Parakresolfütterung gewonnene.

Das aus dem mit Säure behandelten Harn erhaltene Aetherextract gab nach genauer Neutralisation und nach Entfernung der beigemengten Phenole mit Eisenchlorid keine Spur einer Färbung. Es geht daraus mit voller Sicherheit hervor, dass Salicylsäure aus dem eingegebenen Orthokresol nicht gebildet wird, dass also keine analoge Oxydation eintritt, wie beim Parakresol. Dagegen enthielt der ätherische Auszug des mit Salzsäure erwärmten Harnes,

<sup>1)</sup> A. a. O.

welcher mit Natriumcarbonat zur Entfernung der Säuren geschüttelt war, eine Substanz mit den Eigenschaften des Hydrochinon. Dieselbe reducirte in wässriger Lösung alkalische Silberlösung, färbte sich auf Zusatz von Eisenchlorid nicht, und entwickelte beim Kochen mit demselben einen chinonartigen Geruch. Zur Isolirung dieser Substanz wurde ebenso verfahren, wie bei der Darstellung des Hydrochinon, das nach Phenolfütterung gewonnen war.

Ihre wässrige Lösung wurde durch vorsichtige Fällung mit Bleiacetat entfärbt und nach Entfernung des Bleies und Ansäuern wieder mit Aether ausgeschüttelt. Der Rückstand dieses Aetherausuges erstarrte beim Erkalten krystallinisch. Die so erhaltene Krystallmasse war noch braun gefärbt; ihr Schmelzpunkt blieb nach wiederholtem Umkrystallisiren aus siedendem Toluol bei  $121,5^{\circ}\text{C.}$  constant. Durch den wesentlich niedrigeren Schmelzpunkt unterscheidet sie sich bestimmt vom Hydrochinon, ebenso durch die viel grössere Löslichkeit in Wasser. Die Analyse gab Werthe, welche nicht völlig, aber annähernd für Hydrotoluchinon stimmen.

#### Analyse:

	gefunden	berechnet
C	66,8%	67,74%
H	6,1 »	6,45 »

Nietzki<sup>1)</sup> fand den Schmelzpunkt von reinem Hydrotoluchinon bei  $124^{\circ}\text{C.}$ ; ohne Zweifel enthielt das von mir aus dem Harn gewonnene Produkt noch geringe Beimengungen fremder Substanzen, die durch weitere Reinigung nicht entfernt werden konnten.

Der bei weitem grösste Theil des Orthokresols war auch in diesem Falle als Aetherschwefelsäure zur Ausscheidung gelangt.

#### Versuche mit Metakresol.

Von diesem Körper standen mir ungefähr 10 gr. in reinem Zustande zur Verfügung. Dieselben wurden innerhalb dreier Tage einem Hunde verabreicht.

<sup>1)</sup> Berichte d. deutsch. chem. Gesellschaft XI, S. 1278.

Erfuhr das Metakresol eine analoge Oxydation wie das Parakresol, so musste im Aetherauszuge des mit Salzsäure behandelten Harnes Metoxybenzoësäure aufgefunden werden können. Da diese Säure nicht durch gleich scharfe Reactionen wie die Salicylsäure ausgezeichnet ist, so musste bei der Untersuchung auf etwa vorhandene kleinere Mengen von Oxybenzoësäuren in anderer Weise als durch direkte Prüfung verfahren werden.

Nach Versuchen von Nasse<sup>1)</sup> zeigen die Oxybenzoësäuren wie alle Verbindungen, welche nur eine Phenolhydroxylgruppe enthalten, das Verhalten des Phenols selbst gegen Millon's Reagens, mit welchem sie in den verdünntesten Lösungen beim Erwärmen eine rothe Färbung geben.

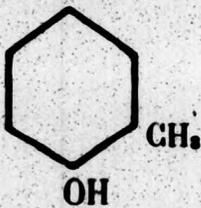
Nun hat Baumann<sup>2)</sup> gezeigt, dass im Harn der Thiere aromatische Oxysäuren, welche als Zersetzungsprodukte des Tyrosin zu betrachten sind, zwar in geringer Menge, aber deutlich erkennbar vorkommen; der Uebertritt von Oxybenzoësäuren in den Harn würde die Menge der normal ausgeschiedenen Oxysäuren merklich steigern. Um eine solche Zunahme der Oxysäuren im Harn nach Eingabe von Metakresol zu ermitteln, wurde der nach Behandlung des Harns mit Salzsäure gewonnene Aetherauszug mit Sodalösung geschüttelt; die wässrige alkalische Lösung, welche alle in dem Aether gelösten Säuren aufgenommen hatte, wurde wiederholt mit Aether extrahirt, um die beigemengten Phenole völlig abzutrennen, hierauf wieder angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt. Nach dem Verdunsten des Aethers hinterblieb eine geringe Menge eines gelben Rückstandes, der mit Wasser aufgenommen wurde. Diese wässrige Lösung, welche die normal vorhandenen Oxysäuren des Harnes nebst den etwa aus dem eingeführten Metakresol gebildeten Oxysäuren enthielt, gab beim Erwärmen der verdünnten Lösung mit Millon's Reagens keine stärkere Reaction als der zuvor untersuchte normale Harn desselben Thieres. Es hatte sich somit eine nachweisbare Menge von Metoxybenzoësäure aus dem gefütterten Kresol nicht gebildet.

<sup>1)</sup> Sitzungsbericht d. Naturf.-Gesellsch. zu Halle, 8. März 1879.

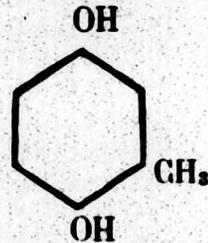
<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. IV, S. 304.

Wurde das Metakresol übereinstimmend mit Orthokresol oxydirt, so war aus den bisher vorliegenden Analogien zu erwarten, dass die neu eintretende Hydroxylgruppe zu der schon vorhandenen die Parastellung einnehmen würde: in diesem Falle würde sich somit auch aus dem Metakresol Hydrotoluchinon gebildet haben, wie aus der Constitutionsformel ersichtlich ist:

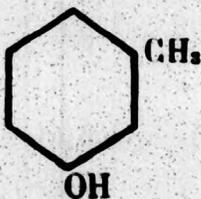
Orthokresol liefert



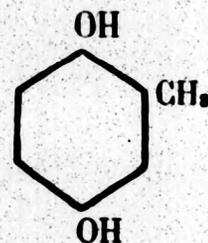
Hydrotoluchinon



Metakresol würde liefern



Hydrotoluchinon



Die Untersuchung des Harns in der bei der Gewinnung des Hydrotoluchinon beschriebenen Weise ergab indessen keine Spur eines Körpers, der alkalische Silberlösung reducirte, Hydrotoluchinon war somit nicht vorhanden, auch ein anderes Oxytoluol war nicht nachweisbar; die Hauptmenge des Metakresol wurde vielmehr im Harn als Aetherschwefelsäure ausgeschieden; es scheint demnach, als ob dasselbe einer weiter gehenden Oxydation im Organismus überhaupt nicht unterliegt. Die drei isomeren Kresole bilden somit ein Beispiel von drei isomeren Verbindungen, die alle drei im Organismus sich ungleich verhalten.

Das Parakresol bildet Paroxybenzoësäure.

Das Orthokresol bildet Hydrotoluchinon.

Das Metakresol wird unverändert als Aetherschwefelsäure ausgeschieden.

Versuche mit Para- und Ortho-Bromtoluol.

Da die Kresole (Oxytoluole) gegenüber den Oxydationsvorgängen im Thierkörper sich ungleich verhalten, so schien

es von Interesse, die analogen Bromderivate auch in dieser Richtung zu prüfen.

Bei den Fütterungsversuchen mit aromatischen, halogen-substituirten Kohlenwasserstoffen konnte ausserdem leicht ermittelt werden, ob dieselben vielleicht zum Theil eine durchgreifende Oxydation im Organismus erfahren, durch welche das Brom aus der organischen Verbindung gelöst und als Brommetall in dem Harn ausgeschieden wurde.

Die Bromtoluole sind weniger giftig als das Brombenzol, und werden von kräftigen Hunden in täglichen Dosen von 6 gr. und darüber leicht ertragen.

Der nach Eingabe von Parabromtoluol entleerte Harn drehte die Polarisationssebene nicht, und zeigte beim Kochen mit alkalischer Kupferlösung kein Reduktionsvermögen. Der normale Harn enthielt in 50 Cc.:

Schwefelsäure	A	0,2156 gr.	Verhältniss	$\frac{A}{B} = 11,7.$
Aetherschwefelsäure	B	0,0184 gr.		

50 Cc. des Harns am Tage nach Eingabe von 6 gr. Parabromtoluol enthielt:

Schwefelsäure	A	0,2246 gr.	Verhältniss	$\frac{A}{B} = 12.$
Aetherschwefelsäure	B	0,0186 gr.		

Im Destillat des mit Salzsäure versetzten Harnes liessen sich keine merkbaren Mengen flüchtiger Phenole nachweisen; es gab mit Bromwasser keinen Niederschlag, und beim Erwärmen mit Millon's Reagens trat nur eine schwache Rothfärbung wie beim normalen Harn ein. Die Aetherauszüge des eingedampften und angesäuerten Harnes hinterliessen beim Verdunsten ein braunes Harz, aus welchem durch siedendes Wasser beim Erkalten in Nadeln krystallisirende Säuren aufgenommen wurden, die sich durch Umkrystallisiren aus Wasser wieder reinigen liessen.

Durch Petroleumäther wurde daraus eine kleine Menge einer in Tafeln krystallisirenden, bromhaltigen, stickstofffreien Säure aufgenommen, die bei 243° C. schmolz, und sich als identisch erwies mit der Parabrombenzoësäure (Schmelzpunkt 246—248°).

Der bei weitem grössere Theil der aus dem Harn gewonnenen Säure war in Petroleumäther unlöslich, enthielt Brom und Stickstoff, und zeigte die Zusammensetzung einer Bromhippursäure  $C_9H_8BrNO_3$ .

## Analyse:

	gefunden	berechnet
C	41,8%	41,9%
H	4,0 »	3,1 »
Br	30,7 »	31,0 »

Durch kochende Salzsäure wird sie in Glycocoll und Parabrombenzoësäure (Schmelzpunkt  $243-244^\circ C$ ) gespalten.

Die Parabromhippursäure ist in kaltem Wasser fast unlöslich, in heissem Wasser, in Alkohol und gewöhnlichem Aether ist sie leicht löslich, sie krystallisirt aus Wasser in flachen Nadeln.

Das Barytsalz hat die Form feiner, weisser Nadeln. ist in kaltem Wasser sehr schwer, in heissem Wasser leichter löslich.

## Analyse:

	gefunden	berechnet
Ba	20,16%	20,9%

Mit den Alkalien und mit Magnesium bildet sie lösliche Salze, die Salze mit Kupfer, Blei, Cadmium, Calcium, Lithium sind in Wasser kaum löslich.

Eine der Bromphenylmercaptursäure entsprechende schwefelhaltige Verbindung war in dem Harn nach Bromtoluolfütterung nicht enthalten.

Um festzustellen, ob der Harn Brommetalle enthielt, wurde der nach 6 gr. Parabromtoluol entleerte Harn — ca. 300 CC. — mit Salpetersäure angesäuert und mit Silbernitrat vollständig gefällt. Der gut ausgewaschene Niederschlag wurde mit Soda geschmolzen: die Lösung der Schmelze in Wasser gab bei dem Ansäuern mit Salzsäure, mit Chlorwasser und Schwefelkohlenstoff keine Spur einer Bromreaktion. Das Parabromtoluol erfährt demnach im Organismus keine durchgreifende Oxydation. Da diese Beobachtung im Gegensatze steht zu den Angaben von Steinauer,

der nach Fütterung mit Brombenzol reichliche Mengen von Brommetall im Harn der Thiere gefunden haben will, so habe ich den Versuch noch einmal wiederholt, aber das Resultat war genau dasselbe wie beim erstenmale.

Das Parabromtoluol verhält sich somit analog dem Parakresol, indem es wie das Toluol selbst zu Parabrombenzoësäure oxydirt wird, welche im Harn grösstentheils als Bromhippursäure erscheint. Neben dieser werden, wie bei Fütterungsversuchen mit allen aromatischen Verbindungen, braune, nicht definirbare, harzige Körper gebildet, die wahrscheinlich Condensationen aus den erstgebildeten Oxydationsprodukten darstellen.

Die Untersuchung des Harns nach Fütterung mit Orthobromtoluol wurde wie bei den Versuchen mit Parabromtoluol ausgeführt. Der nach Eingabe von ca. 6 gr. Orthobromtoluol entleerte Harn der Thiere drehte die Ebene des polarisirten Lichtes nicht, zeigte kein auffälliges Reduktionsvermögen beim Erwärmen mit alkalischer Kupferlösung und enthielt keine der Bromphenylmercaptursäure entsprechende schwefelhaltige Verbindung.

Die Aetherschwefelsäuren waren ebenso wenig vermehrt wie nach Parabromtoluol; es zeigte sich im Gegentheil eine Abnahme derselben:

Normaler Harn enthielt in 40 Cc.:

Schwefelsäure	A	0,1866 gr.	Verhältniss $\frac{A}{B} = 11;$
Aetherschwefelsäure	B	0,0171 „	

Harn nach 6 gr. Orthotoluol enthielt in 40 Cc.:

Schwefelsäure	A	0,159 gr.	Verhältniss $\frac{A}{B} = 20.$
Aetherschwefelsäure	B	0,0074 „	

Die Abnahme der Aetherschwefelsäuren im Harn nach Eingabe solcher aromatischen Stoffe, welche im Organismus nicht selbst in Phenole umgewandelt werden, kann dadurch bedingt sein, dass dieselben eine desinficirende Wirkung auf die Fäulnissvorgänge im Darm ausüben.

Das Orthobromtoluol (Siedepunkt 180—183° C.) wird somit im Organismus nicht analog dem Orthokresol oxydirt.

Beim Ausschütteln des mit Salzsäure behandelten Harnes werden gleichfalls krystallinische, stickstoffhaltige Säuren erhalten, aus welchen aber reine Orthobromhippursäure nicht gewonnen werden konnte, weil in Folge eines geringen Gehaltes des Bromtoluols an der Paraverbindung etwas Parabromhippursäure beigemischt war.

Auch nach der Fütterung mit Orthobromtoluol wurde im Harn kein Brom in anorganischer Verbindung ausgeschieden.

Von höher substituirten Phenolen habe ich noch die Oxydationsprodukte, die aus Thymol im Organismus gebildet werden, zu ermitteln versucht.

Der nach Eingabe von 3 gr. Thymol pro die entleerte Harn ist dunkel gefärbt, und wie Baumann und Herter<sup>1)</sup> schon gezeigt haben, reich an Aetherschwefelsäuren.

Aus dem mit Salzsäure erwärmten Harn werden durch Aether zwei Substanzen aufgenommen. Die eine derselben ist eine starke, in Wasser sehr leicht lösliche Säure, welche aber weder für sich noch in Salzen krystallisirt erhalten werden konnte.

Die zweite Substanz wird aus der mit Soda neutralisirten wässerigen Lösung des Aetherausguges beim Schütteln mit Aether neben Thymol aufgenommen, und zeigt die Eigenschaften eines mit den Wasserdämpfen nicht flüchtigen Phenols. Die wässerige Lösung derselben reducirt ammoniakalische Silberlösung. Es ist nicht unwahrscheinlich, dass dieser Körper das Hydrothymochinon ist, dasselbe war indessen nur in relativ kleiner Menge vorhanden und konnte nicht rein gewonnen werden.

---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. I, S. 244.