

Ueber Thymolglycuronsäure.

Von

Dr. med. F. Blum,
Assistenzarzt an der medicinischen Klinik.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Universität Freiburg i. B., Medicinische Abtheilung.)
(Der Redaction zugegangen am 23. März 1892.)

In Nummer 5 des Jahrganges 1891 der «Deutschen Medicinischen Wochenschrift» habe ich über das «Verhalten des Harns nach grossen Thymoldosen» berichtet und am Schlusse jenes Aufsatzes eine Beobachtung, die mir aufgefallen war, mit folgenden Worten erwähnt:

«Der Thymolharn, mit Salzsäure und unterchlorigsaurem Natron bis zum Verschwinden der Grünfärbung behandelt, nimmt eine gelbe Farbe an und trübt sich. Allmählich scheiden sich an der Wand und an dem Boden des Gefässes kleine weissliche Krystalle ab.» «Diese Krystalle stellen eine Säure dar, welche in Wasser unlöslich ist, in Weingeist und Aether sich leicht löst. Die Substanz ist stickstofffrei und reich an Chlor.»

Diese Säure ist ein Chlorsubstitutionsproduct der Thymolglycuronsäure, die nach dem innerlichen Gebrauche von Thymol im Harne auftritt und sich nach der im Folgenden zu beschreibenden Methode leicht und quantitativ abscheiden lässt.

Besonders günstige Umstände gestatteten mir, im Laufe von 1 $\frac{1}{2}$ Jahren ca. 300 gr. Thymol, zumeist in Dosen von 3 gr. pro die, innerlich einzugeben¹⁾.

Bei diesen Dosen habe ich niemals irgend welche Beschwerden gesehen.

¹⁾ Darunter waren Fälle von Taenien-, Trichinenerkrankung und Darmcatarrh.

Der Harn wurde nach der Thymoleingabe in getrennten Portionen aufgefangen und nur derjenige, welcher stärker nachdunkelte, wurde weiter verarbeitet. Der fast schwarze Harn wurde in ein Becherglas filtrirt, dann mit etwa einem Drittel seines Volums an concentrirter Salzsäure und darauf mit mindestens eben so viel einer verdünnten Lösung von unterchlorigsaurem Natron versetzt. Schon bei Zimmertemperatur bilden sich in den nächsten 48 Stunden in der Flüssigkeit zahlreiche bis 5 Millimeter lange Krystallnadeln. Nach etwa 96 Stunden ist die Krystallisation beendigt. — Der Inhalt des Becherglases wird nun auf ein grosses Filter gegossen. Die Krystalle, sowie ein gelber Brei bleiben zurück; das Filtrat ist undurchsichtig gelb, setzt aber keine Krystalle mehr ab.

Der Filtrerrückstand wird zunächst mit Wasser gewaschen und dann mit Sodalösung übergossen. Es filtrirt eine schmutzig braune Flüssigkeit, die das Natriumsalz der Säure, sowie Chlorverbindungen des Thymols und des Thymohydrochinons enthält.

Diese letzteren Körper sind aus den Aetherschwefelsäuren des Thymols und des Thymohydrochinons bei Gegenwart von Salzsäure abgespalten worden. Durch die Einwirkung des Chlors werden sie alsdann substituirt.

Um genannte Verunreinigungen von dem Salze abzutrennen, wird mehrfach mit Aether ausgeschüttelt, bis die wässrige Flüssigkeit rothbraun und vollständig klar geworden ist und der Aether keinen Farbstoff mehr aufnimmt.

Der wässrigen Lösung wird Schwefelsäure zugesetzt. — Sofort fällt, wie besondere Versuche zeigten, quantitativ die Säure in feinen weissen Nadeln aus.

Der Niederschlag wird auf ein Filter gebracht, mit Wasser gewaschen und über Schwefelsäure bis zum constanten Gewicht getrocknet.

Die Substanz wurde darauf noch einmal in gleicher Weise gereinigt und stellte dann eine weisse krystallinische Masse dar.

Schön ausgebildete Krystalle werden erhalten, wenn man eine alkoholische Lösung der Substanz in Wasser einfließen lässt.

Auch aus siedendem Wasser kann man die Säure umkrystallisiren.

Die über Schwefelsäure getrockneten Krystalle ergaben bei der Analyse Werthe, welche für die Formel



gut stimmen.

Berechnet für $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{ClO}_4$:	Gefunden:		
	I.	II.	III.
C = 46,49%	46,46%	—	46,46%
H = 5,33%	5,59%	—	5,47%
Cl = 17,12%	17,15%	17,29%	17,01%

Die C- und H-Bestimmungen sind durch Verbrennungen mit Bleichromat gewonnen worden.

No. I. 0,1675 gr. Substanz gaben

0,2853 gr. CO_2 = 46,46% Kohlenstoff, und

0,0842 gr. H_2O = 5,59% Wasserstoff.

No. III. 0,1717 gr. Substanz gaben

0,2925 gr. CO_2 = 46,46% Kohlenstoff, und

0,0846 gr. H_2O = 5,47% Wasserstoff.

Die Chlorbestimmungen wurden nach der Methode von Carius vorgenommen.

No. I. 0,1482 gr. Substanz ergaben

0,1027 gr. AgCl = 17,15% Chlor.

No. II. 0,2008 gr. Substanz ergaben

0,1403 gr. AgCl = 17,29% Chlor.

No. III. 0,1825 gr. Substanz ergaben

0,1254 gr. AgCl = 17,01% Chlor.

Da die Substanz eine starke Säure ist und ihre Alkalisalze neutrale Reaction besitzen, konnte auf alkalimetrischem Wege das Aequivalentverhältniss der Säure festgestellt werden:

0,1328 gr. Substanz erforderten 3,4 ccm. $\frac{1}{10}$ -Normal-Kalilauge = 0,019 gr. Kaliumhydroxyd.

Daraus berechnet sich das Aequivalentgewicht der Säure zu 391,4, während der Formel $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{ClO}_4$ das Moleculargewicht 206,5 zukommt. Es ist also jedenfalls die aus den Analysen berechnete einfachste Formel zu verdoppeln. Vorausgesetzt, dass die neue Säure einbasisch ist, müsste ihr somit die Formel $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{O}_8$ zukommen.

Hieraus ergab sich die Wahrscheinlichkeit, dass eine zweifach gechlorte Thymolglycuronsäure vorlag. Die später zu beschreibenden Spaltungsversuche haben diese Annahme vollauf. bestätigt.

Diese Dichlorthymolglycuronsäure besitzt folgende Eigenschaften:

In kaltem Wasser ist sie unlöslich; in sehr viel kochendem Wasser geht sie in Lösung. In Alkohol, Aether, Aceton, Benzol und Alkalien ist die Substanz leicht löslich.

Der Schmelzpunkt der Säure liegt bei 125—126° C., aber schon bei 116° C. fängt die Substanz an, sich zusammenzuballen.

Lösungen der Säure drehen die Ebene des polarisirten Lichtes nach links.

Das spezifische Drehungsvermögen der Säure in alkoholischer Lösung wurde zu

$$\alpha_D = -66^\circ 11'$$

gefunden.

1,1387 gr. Substanz in 14,837 gr. Alkohol gelöst ergaben bei 100 Millimeter langer Röhre im Natriumlicht einen Drehungswinkel von 305'.

Ammoniakalische Silberlösung wird von der Säure nicht reducirt, ebensowenig alkalische Kupferoxydlösung, selbst nicht bei starkem Erhitzen.

Gegen Mineralsäuren zeigt diese Glycuronsäureverbindung in der Kälte grosse Widerstandsfähigkeit.

Bei den bisher dargestellten Glycuronsäureverbindungen¹⁾ ist Linksdrehung stets beobachtet worden; einige derselben reduciren alkalische Kupferoxydlösung in der Wärme. Es sind offenbar diejenigen, welche durch Alkali in der Wärme leicht gespalten werden.

Salze der Dichlorthymolglycuronsäure.

Um das Silbersalz zu erhalten, wurde die Säure in wenig Ammoniak gelöst und dann Silbernitratlösung zugetropft.

¹⁾ S. die ausführliche Darstellung der Glycuronsäureliteratur in dem Lehrbuch von Neubauer u. Vogel, jetzt Huppert: «Analyse des Harns», 1890, 9. Auflage, S. 116—125.

Es entstand ein voluminöser weisser Niederschlag, der auf einem Filter aufgesammelt wurde. Bei dem Versuche, den Filtrerrückstand von dem überschüssigen salpetersauren Silber durch Auswaschen mit Wasser zu befreien, ging das Salz in Lösung (Bildung eines Niederschlages im Filtrat bei Ansäuern mit Salpetersäure), so dass mit dieser Procedur zu einer Zeit aufgehört werden musste, zu welcher noch nicht sicher alles überschüssige Silber entfernt war. Diesem Umstande ist es wohl zuzuschreiben, dass die Analyse keine brauchbaren Zahlen lieferte¹⁾.

Das Baryumsalz wurde in der Weise gewonnen, dass die Säure in Barythydratlösung aufgenommen wurde.

Dann wurde ein CO₂-Strom eingeleitet und dadurch das überschüssige Baryum ausgefällt. Die durch Filtration gereinigte Lösung des Ba-Salzes wurde über Schwefelsäure eingeeengt. Es entstanden bei dem Verdunsten des Wassers allmählich weisse Krusten, die beim vollständigen Austrocknen zu einer weissen festen Masse erstarrten.

Eine Analyse des Salzes ergab:

$$\text{Ba} = 14,54\%.$$

0.2125 gr. Substanz lieferten

$$0,0525 \text{ gr. BaSO}_4 = 14,54\% \text{ Baryum.}$$

Für (C₁₆H₂₁Cl₂O₈)₂Ba berechnet sich der Procentgehalt an Baryum auf 14,27%.

Spaltung.

Es wurde zum Zwecke der Spaltung eine grössere Menge der Substanz mit 5% Schwefelsäure im Destillationsapparat mehrere Stunden erhitzt.

Schon sehr bald bildeten sich schwarze Flocken in dem Kolben, während im Uebrigen die Flüssigkeit leicht gelb, aber durchsichtig klar geworden war.

¹⁾ Gefunden wurden 22,50% Ag. Die Formel C₁₆H₂₁Cl₂O₈Ag verlangt 20,77% Ag. In dem Filtrat + Waschwasser krystallisirten allmählich perlmutterglänzende Plättchen des Salzes aus. Ihre Menge war zu einer Analyse zu gering.

In der Vorlage sammelte sich zunächst die Emulsion eines goldgelben Oeles mit Wasser. Erst bei längerem Stehen setzten sich grosse Oeltropfen am Boden des Gefässes ab. Die letzteren wurden im Scheidetrichter von der wässerigen Emulsion abgetrennt. Diese aber, sowie der durch Filtration von den Flocken etc. befreite Destillationsrückstand wurden so lange mit Aether ausgeschüttelt, bis derselbe sich nicht mehr gelb färbte.

Dem überdestillirten ätherfreien Oele wurde durch Filtriren sein geringer Wassergehalt entzogen (derselbe bleibt im Filter haften). Die Analyse ergab darauf Werthe, welche für ein

«Dichlorthymol»

gut stimmen.

	Berechnet für $C_{10}H_{12}Cl_2O$:	Gefunden:
C	= 54,84%	54,96%
H	= 5,48%	5,99%
Cl	= 32,42%	32,56%

0,1469 gr. Substanz gaben

0,2961 gr. CO_2 = 54,96% Kohlenstoff, und

0,0790 gr. H_2O = 5,96% Wasserstoff.

0,1702 gr. Substanz gaben

0,2240 gr. $AgCl$ = 32,56% Chlor.

Der etwas zu hohe Werth für Wasserstoff erklärt sich aus dem Umstande, dass das Bleichromat mit dem Oele kalt gemischt werden musste, um vorzeitige Zersetzung zu vermeiden.

Das durch Aetherauszug gewonnene Dichlorthymol enthielt neben dem Oele noch Aether, Alkohol und Wasser.

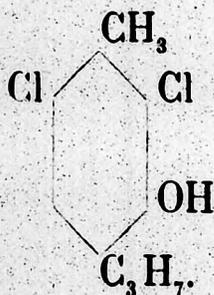
Dieser Theil der Ausbeute wurde mit Natronlauge und Benzoylchlorid behandelt. Nur langsam bildet sich dabei die Benzoylverbindung des Dichlorthymols.

Obwohl die Spaltung der Dichlorthymolglyceuronsäure quantitativ verlief, war doch die Menge des verfügbaren Dichlorthymols so gering, dass ausgiebige Versuche mit diesem bisher noch nicht bekannten Körper nicht möglich waren. Ueber die Stellung der beiden Chloratome im Thymol konnte festgestellt werden, dass diese im Benzolkern und nicht in einer Seitenkette sitzen; denn bei Behandlung mit Natriumamalgam konnte das Chlor nur langsam und unvollständig durch

Wasserstoff ersetzt werden. Dass bei dieser Reaction Thymol entstand, zeigte sich durch den charakteristischen Geruch an.

Nach der Theorie sind drei im Benzolring substituirte Dichlorthymole möglich. In Analogie zu ähnlichen Chlorirungen ist anzunehmen, dass die beiden Chloratome in Ortho- und Para-Stellung zur OH-Gruppe sich befinden.

Dem aus der Dichlorthymolglycuronsäure abgespaltenen Dichlorthymol käme somit folgende Constitution als die wahrscheinlichste zu:



Der zweite Paarling der ursprünglichen Säure war in dem durch Aether gereinigten Destillationsrückstand zu suchen.

Die Analyse der gepaarten Säure: $C_{16}H_{22}Cl_2O_8$, sowie diejenige des einen Paarlings: $C_{10}H_{14}Cl_2O$ liessen für den zweiten Bestandtheil die Formel $C_6H_{10}O_7$ mit einer Carboxylgruppe, d. i. die Formel der Glycuronsäure, erschliessen.

Die Lösung dieser Substanz zeigte in der That die Eigenschaften der Glycuronsäure: sie reducirte alkalische Kupferlösung stark schon bei schwachem Erwärmen; sie drehte ferner die Ebene des polarisirten Lichtes nach rechts. Danach kann nicht bezweifelt werden, dass das zweite Spaltungsproduct die Glycuronsäure ist.

Constitution der Dichlorthymolglycuronsäure.

Schmiedeberg und Meyer, welche zuerst beide Bestandtheile einer gepaarten Glycuronsäure — der Camphoglycuronsäure — analysirt haben¹⁾, haben die Verbindung als eine Ketonsäure²⁾ angesehen und den Glycuronsäurerest in folgender Weise geschrieben:



¹⁾ « Ueber Stoffwechselproducte nach Campherfütterung », Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. III, 1879, S. 422.

²⁾ L. c., S. 444.

Bei der Spaltung sollte alsdann unter Wasseraufnahme einmal ein Alkohol — das Campherol — und zweitens ein Aldehyd — die Glycuronsäure — entstehen.

Auf Grund der späteren Forschungen schreibt Huppert in seinem Lehrbuche über die gepaarten Glycuronsäuren¹⁾: «Sie spalten sich unter Aufnahme von 1 Mol. Wasser in Glycuronsäure und die zugehörigen Alkohole.» Die Verbindung selbst wird als eine «äther- oder glycosidartige» bezeichnet.

Beide Anschauungen tragen dem Umstande Rechnung, dass die gepaarten Glycuronsäuren die Eigenschaften, welche die Zucker mit der Aldehydgruppe charakterisiren, d. i. die Reduction alkalischer Kupferlösung, verloren haben.

Hinsichtlich der Hypothese von Schmiedeberg und Meyer ist zu constatiren, dass unter den zahlreichen Reactionen der Ketone keine Spaltung eines solchen in einen Aldehyd unter Wasseraufnahme bisher bekannt geworden ist. Man hat deshalb mit Recht jene erste Auffassung fallen gelassen²⁾.

Aber auch die zweite Auffassung von der ätherartigen Paarung unter Wasseraustritt trifft für die Dichlorthymolglycuronsäure nicht zu.

Selbst bei monatelangem Stehen über Schwefelsäure wurde kein Krystallwasser abgespalten; als dann aber die Substanz auf 100—105° C. längere Zeit erhitzt wurde, trat eine grössere Gewichtsabnahme, als 1 H₂O entsprach, ein, und die Substanz zersetzte sich. Diese Gewichtsabnahme war je nach der Dauer des Erhitzens eine verschiedene. Wahrscheinlich hätte ein Zeitpunkt gefunden werden können, bei dem der Verlust etwa 1 H₂O entsprochen hätte; allein ein solches Verfahren hiesse den Thatsachen Gewalt anthun. Selbst wenn die Säure in einem solchen Falle nicht zersetzt würde, wäre damit doch nicht bewiesen, dass es sich bei dem Gewichtsverluste um Krystallwasser gehandelt hat, denn inner-

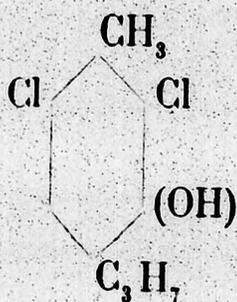
¹⁾ L. c., S. 119.

²⁾ S. auch hierzu die Reactionen der Zucker mit der CO-Gruppe und diejenigen der Aldehydzucker in Emil Fischer's Vortrag in den Berichten der Deutschen Chemischen Gesellschaft, 23. Jahrgang, 1890, S. 2114—2141.

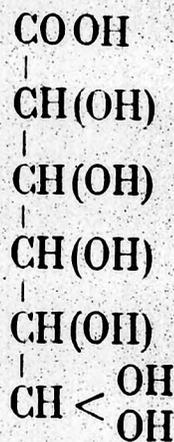
halb des Moleküls der Glycuronsäure ist mehrfach Gelegenheit zu Condensationen gegeben. Schon Schmiedeberg und Meyer haben die leichte Anhydridbildung innerhalb der Glycuronsäure constatirt. Es sind mehrere Glycuronsäureverbindungen mit 1 H₂O Krystallwasser beschrieben worden. Es wäre nicht ohne Interesse, festzustellen, ob es sich in einzelnen Fällen nicht um Austritt von Wasser infolge von Condensation gehandelt hat.

Was nun die Constitution der Dichlorthymolglycuronsäure betrifft, so bleibt, weil die Verbindung die Eigenschaften eines Zuckers mit der COH-Gruppe verloren hat, nur die Annahme übrig, dass der Aldehyd als zweiwerthiger Alkohol in Reaction getreten ist. Diese Anschauung erklärt vollständig, dass der gepaarten Säure die reducirenden Eigenschaften fehlen und dass eine Wasserabspaltung ausgeblieben ist. Sie erklärt ferner, dass sich die Dichlorthymolglycuronsäure in einen Alkohol und einen Aldehyd trennen lässt. Dabei steht sie durchaus in Analogie mit zahlreichen anderen Aldehydreactionen.

Die Constitutionsformel würde demnach auf folgende Weise sich veranschaulichen lassen:

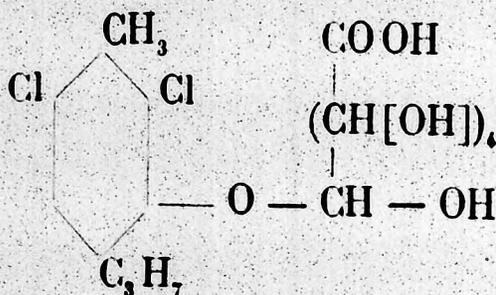


Dichlorthymol



Glycuronsäure

(als zweiwerthiger Alkohol)



Dichlorthymolglycuronsäure.

Auftreten der Thymolglycuronsäure.

Külz hat das Auftreten von Thymolglycuronsäure nach Verfütterung von Thymol wahrscheinlich gemacht¹⁾. Es ist ihm aber nicht gelungen, die ganze Verbindung oder einen Paarling derselben zur Analyse zu bringen.

In dem hier geschilderten Verfahren liegt eine äusserst einfache Methode der Darstellung der genannten Säure vor.

Inwieweit die Chlorirung der freien Säure auch bei anderen Glycuronsäureverbindungen anwendbar ist, kann ich zur Zeit noch nicht angeben.

Nur so viel möchte ich bemerken, dass auch nach Verfütterung anderer aromatischer Substanzen im Harn Körper auftreten, deren Chlorsubstitutionsproducte gut krystallisiren.

Die Gegenwart von Thymolglycuronsäure lässt sich schon nach Eingabe eines Grammes Thymol durch die Methode der Chlorirung nachweisen.

In einem Falle schied ein Mann nach 3 gr. Thymol innerhalb 24 Stunden so viel Thymolglycuronsäure aus, wie 0,2025 gr. Dichlorthymolglycuronsäure entspricht.

Da in der im Vorstehenden beschriebenen Methode der Darstellung ein quantitatives Verfahren zur Abscheidung der Thymolglycuronsäure aufgefunden ist, so ist damit die Möglichkeit gegeben, Glycuronsäure- und Schwefelsäurepaarungen in ihrem wechselseitigen Verhalten genau zu studiren.

In dem Harn zweier Hunde konnte selbst nach Dosen von 4 gr. Thymol keine Thymolglycuronsäure nachgewiesen werden. Ebenso wenig trat nach Verfütterung von Thymohydrochinon eine durch Chlorirung darstellbare Glycuronsäureverbindung auf. Die Aetherschwefelsäuren aber waren stark vermehrt.

Thymochinon wurde von den Hunden schon bald nach der Eingabe erbrochen.

¹⁾ Zeitschrift für Biologie, Bd. 27, Neue Folge IX, S. 252.

Fasst man die Resultate der Untersuchungen¹⁾ über die Ausscheidung des Thymols beim Menschen zusammen, so wurde nachgewiesen, dass das Thymol, soweit es nicht mit den Fäces abgeht²⁾, im Harne ausgeschieden wird, als:

- das Chromogen eines grünen Farbstoffs,
- als Thymolschwefelsäure,
- » Thymolglycuronsäure; und
- » Thymohydrochinonschwefelsäure.

¹⁾ S. Deutsche Medic. Wochenschrift, 1891, No. 5.

²⁾ Es ist mir mehrfach gelungen, Thymol in den Fäces nachzuweisen.
