

Ueber das Schicksal cyklischer Terpene und Campher im thierischen Organismus.

(Zweite Mittheilung.)

Ueber die Menthol- und Borneolglykuronsäure.

Von

Emil Fromm und Paul Clemens.

(Aus der medicinischen Abtheilung des chemischen Universitätslaboratoriums zu Freiburg i. B.)

(Der Redaction zugegangen am 27. December 1901.)

Im Anschluss an die jüngst erschienene Abhandlung von Fromm und Hildebrandt über das Schicksal cyklischer Terpene und Campher im thierischen Organismus¹⁾ haben wir seit geraumer Zeit auch über Menthol und Borneol gearbeitet und unsere Untersuchungen über das Verhalten dieser beiden Stoffe schon seit Wochen abgeschlossen.²⁾ Wir hatten die Absicht, die Resultate zusammen mit den Untersuchungen anderer analoger und homologer Stoffe im Rahmen einer grösseren Arbeit zu veröffentlichen.

Da jedoch soeben eine Abhandlung von A. Bonanni über Borneol- und Mentholglykuronsäure³⁾ erschienen ist, deren Ergebnisse sich nicht völlig mit den von uns erzielten decken und deren Methoden von den unsrigen nicht unwesentlich ab-

1) Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XXXIII, S. 579.

2) Am 14. December 1901 wurde über die Ergebnisse dieser Untersuchungen bereits kurz in der chemischen Gesellschaft Basel — Freiburg — Mülhausen unter Demonstration der betreffenden Präparate berichtet.

3) Beitrag z. chem. Physiol. etc. von Hofmeister, Bd. 1, S. 304.

weichen, sollen wir uns veranlasst, unsere Resultate schon jetzt mitzuthemen.

Bonanni hat augenscheinlich bei der Abfassung seiner im December erschienenen Arbeit die oben citirte Abhandlung von Fromm und Hildebrandt nicht gekannt, obwohl dieselbe bereits Ende October erschienen ist. Dies geht nicht nur daraus hervor, dass Bonanni jene Abhandlung an keinem Orte citirt, sondern ergibt sich auch daraus, dass dieser Forscher den folgenden Umstand nicht berücksichtigt hat. Durch Untersuchungen, welche mit Thujon angestellt worden sind, haben Fromm und Hildebrandt gezeigt, dass die Hydroxylierung, welche einzelne Campherarten durch den Thierkörper erleiden, nicht nur durch Oxydation, sondern auch durch Hydratation bewirkt werden kann. Wollte man nun erweisen, dass hydroxylhaltige Campherarten einer weiteren Hydroxylierung im Thierkörper nicht mehr unterliegen, so musste der Nachweis geführt werden, dass in diesem Falle nicht nur keine Oxydation, sondern auch keine Hydratation eintritt. Nach den Untersuchungen von Pellacani¹⁾ mussten sich für diesen Nachweis die Glykuronsäuren, welche nach Darreichung von Borneol und Menthol im Harn auftreten, besonders gut eignen, da dieser Forscher schon beobachtet hat, dass dieselben Neigung zum Krystallisiren zeigen. In der That ist es uns auch geglückt, den gewünschten Nachweis einwandfrei zu führen. Dieser Nachweis ist durch Bonanni's Untersuchungen nicht geführt: denn dieser Forscher hat erstens die Mentholglykuronsäure überhaupt nicht in reinem Zustande darzustellen vermocht, und zweitens eine Borneolglykuronsäure analysirt, welche noch ein Molekül Wasser enthielt. Nach diesen Ergebnissen war die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass Menthol und Borneol im Harn als Mentholhydrat- und Borneolhydratglykuronsäuren erscheinen, und dass diese Hydrate bei der Abspaltung aus den Glykuronsäuren unter Verlust von Wasser sich wieder in Menthol und Borneol zurückverwandeln. Um also den Nachweis, dass keine Hydratation stattgefunden

¹⁾ Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 17, S. 369.

hat, zu einem zwingenden zu machen, ist es nothwendig, die gepaarten Glykuronsäuren in reinem Zustande zu isoliren und sie entweder selbst oder eines ihrer Salze wasserfrei zu analysiren. Diesen Anforderungen haben wir dadurch genügt, dass wir die Mentholglykuronsäure in Form schöner Krystallnadeln rein darstellten (Bonanni beschreibt diese Säure als einen Syrup, der keine Neigung zur Krystallisation zeigte), und dass wir deren schön krystallisirendes Cadmiumsalz wasserfrei zu analysiren vermochten, und dass es uns endlich gelungen ist, auch die Borneolglykuronsäure in wasserfreiem Zustande zur Analyse zu bringen.

So ist also erwiesen, dass in der That Borneol und Menthol im Thierkörper keine weitere Hydroxylierung erleiden, weder durch Oxydation noch durch Hydratation, und wir sind bis zum Beweis des Gegentheils wohl berechtigt, dieses Verhalten auch den übrigen hydroxylhaltigen Campherarten (Sabinol) zuzuschreiben und das Ergebniss der vorliegenden Untersuchung als eine willkommene Bestätigung der Regel aufzufassen, welche Fromm und Hildebrandt (l. c.) aufgestellt haben: »Der Thierkörper verwandelt die cyklischen Terpene und Campher durch Oxydation oder Hydratation in Monohydroxylderivate, falls das dargereichte Produkt nicht bereits eine Hydroxylgruppe enthält.«

Beschreibung der Versuche.

Während Bonanni seine Versuche an Hunden angestellt hat, haben wir mit Kaninchen operirt, welchen die fraglichen Stoffe mit Hilfe der Schlundsonde beigebracht wurden. Starke Kaninchen vertragen so bis zu 5 g Menthol und bis zu 2 g Borneol dauernd ohne wesentlichen Schaden, wenn man von einer geringen Harnverhaltung absieht, welche sich regelmässig bei Anfang der Versuche eingestellt hat. Die Aufarbeitung des Harnes erfolgte täglich derart, dass der Harn zunächst mit neutralem Bleiacetat versetzt wurde. Die Niederschläge, welche mit diesem Mittel erhalten wurden, waren stets frei von Glykuronsäuren und lieferten bei der Destillation mit verdünnter Schwefelsäure nur minimale Mengen flüchtiger Spal-

tungsprodukte. Das Filtrat von diesem Niederschlage wurde nunmehr mit basischem Bleiacetat versetzt. Der hierdurch erzeugte Niederschlag enthält alle Glykuronsäuren und zwar quantitativ: denn das Filtrat von diesem Niederschlage liefert auch nach der Concentration im Vacuum mit verdünnter Schwefelsäure gekocht, weder reducirende noch flüchtige Spaltungsprodukte.

So enthält also allein der mit basischem Bleiacetat erzeugte Niederschlag alle die gesuchten Produkte und man kann sowohl den mit neutralem Bleiacetat erhaltenen Niederschlag als auch das Filtrat vom basischen Bleiacetat als frei von den gesuchten Substanzen verwerfen.

Was die Verarbeitung der mit basischem Bleiacetat erhaltenen Niederschläge anlangt, so konnten wir von der umständlichen Behandlung mit Schwefelwasserstoff vollständig absehen, da wir beobachtet haben, dass die hier in Frage kommenden gepaarten Glykuronsäuren gegen verdünnte Schwefelsäure keineswegs so unbeständig sind, wie wohl meist allgemein angenommen wird. Sowohl Mentholglykuronsäure wie auch Borneolglykuronsäure vertragen dauernde Berührung mit 10%iger kalter Schwefelsäure, können sogar mit allerdings sehr verdünnter Säure kurze Zeit bis zum Sieden erhitzt werden, ohne dass eine erhebliche Spaltung eintritt.

In Folge dieser Beobachtungen haben wir die mit basischem Bleiacetat erhaltenen Niederschläge sorgfältig mit verdünnter Schwefelsäure verrieben und vom schwefelsauren Blei durch Absaugen befreit. Das so gewonnene Filtrat enthält nun neben überschüssiger Schwefelsäure und der gesuchten gepaarten Glykuronsäure als wesentliche Verunreinigungen nur noch Essigsäure und geringe Mengen freier Glykuronsäure. Man kann nun die schwefelsaure Lösung entweder mit Aether erschöpfen, wobei in den Aether in der Hauptsache nur gepaarte Glykuronsäure und Essigsäure übergehen. In diesem Falle wird der aus dem Aether gewonnene Rückstand im Vacuum über Natronkalk von der Essigsäure befreit. Man kann aber auch die schwefelsaure Lösung mit Baryumcarbonat neutralisiren, vom

Baryumsulfat abfiltriren, das Filtrat, welches die Baryumsalze der Essigsäure, der gepaarten Glykuronsäure und etwas freier Glykuronsäure enthält, durch Destillation im Vacuum concentriren und den Rückstand durch successive Behandlung mit Alkohol und Aether in die einzelnen Salze zerlegen.

Mentholglykuronsäure.

Aus dem «Mentholharn» wurde in der eben beschriebenen Weise der Bleiniederschlag gewonnen, welcher die gepaarte Glykuronsäure enthält, und nach wiederholtem Auswaschen mit reinem Wasser sorgfältig mit verdünnter Schwefelsäure verrieben. Das hierbei sich bildende Bleisulfat wird auf dem Saugfilter gesammelt und so lange mit Wasser gewaschen, bis in dem Rückstand keine Reste von gepaarten Glykuronsäuren mehr nachgewiesen werden können.

Die gesammelten schwefelsauren Filtrate werden mit fein zerriebenem überschüssigen Baryumcarbonat versetzt und bis zum Aufhören der Reaction sich selbst überlassen. Man saugt nun abermals ab und wäscht den Rückstand so lange mit Wasser, bis in demselben Glykuronsäuren nicht mehr nachzuweisen sind.

Die wässerigen Lösungen der Baryumsalze haben wir durch Destillation im Vacuum concentrirt und die concentrirte Lösung mit Alkohol versetzt. Hierdurch entsteht ein Niederschlag einer in Alkohol schwerlöslichen Substanz I. Die alkoholische Lösung ergibt beim Zusatz von Aether oder Aceton einen zweiten Niederschlag einer in diesen Lösungsmitteln schwer löslichen Substanz II. Die alkoholisch-ätherischen Mutterlaugen endlich liefern eine dritte in allen Mitteln lösliche Substanz III. Wiederholt man das eben beschriebene Fällungsverfahren an allen drei Substanzen mehrmals, so ergibt sich schliesslich, dass die in Alkohol lösliche, in Aether unlösliche Fraction II weitaus die grösste ist und fast ausschliesslich die gepaarten Glykuronsäuren enthält.

Die in Alkohol schwer lösliche Substanz I reducirt Fehling'sche Lösung direkt, d. h. ohne vorausgegangenes Kochen mit Schwefelsäure, und entwickelt beim Ansäuern mit Schwefelsäure starken Geruch nach Essigsäure.

Diese Substanz dürfte demnach aus Glykuronsäure und essigsäurem Baryum bestehen. Wir haben uns durch besondern Versuch überzeugt, dass eine concentrirte Lösung von Baryumacetat durch starken Alkohol niedergeschlagen wird.

Die in allen Mitteln lösliche Substanz III enthält nur sehr wenig Baryum, reducirt auch nach dem Kochen mit Schwefelsäure fast gar nicht und besteht augenscheinlich aus geringen Verunreinigungen der Baryumsalze, unter welchen Benzoesäure nachgewiesen wurde.

Nach dieser Vorreinigung erweist sich das Baryumsalz der gepaarten Glykuronsäure als zu hygroskopisch zur Reindarstellung und Analyse. Aus diesem Grunde wurde eine concentrirte Lösung dieses Salzes mit Cadmiumchlorid bis zur bleibenden Trübung versetzt. Nach einigem Stehen scheidet sich aus der Flüssigkeit ein Salz aus, welches in ansehnlichen weissen Nadeln krystallisirt und durch wiederholtes Umkrystallisiren aus siedendem Wasser analysenrein gewonnen werden kann. Dieses Salz ist das mentholglykuronsäure Cadmium $C_{32}H_{54}O_{14}Cd$, welches mit drei Molekülen Wasser krystallisirt.

Bei 120° verliert das Cadmiumsalz alles Krystallwasser:

Berechnet für $C_{32}H_{54}O_{14}Cd + 3H_2O$: $3H_2O = 6,52\%$.

Gefunden: 6,15; 7,09 %.

Das wasserfreie Salz lieferte bei der Analyse folgende auf die erwartete Formel $C_{32}H_{54}O_{14}Cd$ gut stimmende Werthe:

Berechnet für $C_{32}H_{54}O_{14}Cd$: C 49,61 %; H 6,97 %; Cd 14,47 %; O 28,94 %.

Gefunden: > 49,26 %; > 6,82 %; > 14,26 %.

Trocknet man das Cadmiumsalz statt bei 120° nur kurze Zeit bei 100° , so gelingt es wohl, nur eines der drei Moleküle Wasser zu vertreiben und so ein Salz mit zwei Molekülen Wasser zu erhalten:

Berechnet für $C_{32}H_{54}O_{14}Cd + 2H_2O$: C 47,41 %; H 7,16 %.

Gefunden: > 47,53 %; > 7,06 %.

Merkwürdiger Weise ist die Mentholglykuronsäure viel beständiger, als wir vorausgesetzt haben, und hält sogar kurzes Aufkochen mit sehr verdünnter Schwefelsäure aus. Denn als das Cadmiumsalz mit geringem Ueberschuss von verdünnter

Schwefelsäure versetzt und aufgeköcht wurde, konnte man dem Produkt durch Aether Mentholglykuronsäure $C_{16}H_{28}O_7$ entziehen.

Wider unsere Erwartung ist nämlich die Mentholglykuronsäure leicht löslich in Aether, schwer löslich in Wasser und lässt sich aus siedendem Wasser umkrystallisiren.

Die Mentholglykuronsäure krystallisirt mit $1\frac{1}{2}H_2O$ und schmilzt bei $87-88^\circ$:

Berechnet für $C_{16}H_{28}O_7 + 1\frac{1}{2}H_2O$: C 53,4 %; H 8,63 %.
 Gefunden: > 53,22 %; > 9,05 %.

Wird das Cadmiumsalz mit einem grossen Ueberschuss von 10%iger Schwefelsäure versetzt und das Gemisch mit Wasserdampf destillirt, so scheiden sich auf dem Destillate Krystalle ab, welche trotz des etwas zu niedrigen Schmelzpunktes (39°) nach Geruch, Löslichkeitsverhältnissen und Analyse mit Menthol $C_{10}H_{20}O$ identisch sind:

Berechnet für $C_{10}H_{20}O$: C 76,92 %; H 12,82 %.
 Gefunden: > 76,74 %; > 12,95 %.

Borneolglykuronsäure.

Der Niederschlag, welchen basisches Bleiacetat im «Borneolharn» erzeugt, wird mit verdünnter Schwefelsäure sorgfältig verrieben. Man saugt vom Bleisulfat ab und wäscht letzteres mit Wasser. Die gesammelten schwefelsauren Filtrate erschöpft man mit Aether und verdunstet alsdann die ätherische Lösung. Der Aetherrückstand erstarrt über Natronkalk zum Theil krystallinisch, und man kann aus demselben Krystalle von Borneolglykuronsäure gewinnen. Besser und leichter gewinnt man die Borneolglykuronsäure über ihr Zinksalz. Um dieses herzustellen, neutralisirt man den Aetherrückstand mit Soda oder Ammoniak und versetzt die neutrale Lösung mit einer Zinksalzlösung. Hierbei scheidet sich dann borneolglykuronsaures Zink $C_{32}H_{50}O_{14}Zn + 2H_2O$ aus und kann durch Waschen mit Wasser in analysenreinem Zustande gewonnen werden:

Berechnet für $C_{32}H_{50}O_{14}Zn + 2H_2O$: C 50,59 %; H 7,11 %; Zn 8,56 %.
 Gefunden: > 50,46 %; > 7,35 %; > 8,58 %.

Uebergiesst man das Zinksalz mit wenig mehr als der berechneten Menge 10%iger Schwefelsäure, so entsteht eine fast klare Lösung, aus welcher sich in kurzer Zeit Borneolglykuronsäure $C_{16}H_{26}O_7$ ausscheidet.

Aus siedendem Wasser mehrfach umkrystallisirt, schmilzt diese Säure bei 174—175°.

Trocknet man die neue Verbindung über Schwefelsäure im Vacuum bis zum constanten Gewicht, so ist sie wasserfrei:

Berechnet für $C_{16}H_{26}O_7$: C 58,2 %; H 7,8 %.

Gefunden: » 57,79 %; » 7,85 %.

Destillirt man endlich das Zinksalz mit überschüssiger Schwefelsäure im Dampfströme, so scheiden sich auf dem Destillate Krystalle aus, welche sich durch Geruch, Schmelzpunkt 202° und Analyse als reines Borneol $C_{10}H_{18}O$ erweisen:

Berechnet für $C_{10}H_{18}O$: C 77,9 %; H 11,7 %.

Gefunden: » 77,88 %; » 11,59 %.

Durch die vorliegenden Untersuchungen werden einige der Angaben und Ansichten von Pellacani (l. c. S. 390) richtig gestellt. Weder Borneolglykuronsäure noch Mentholglykuronsäure sind mehrbasisch, wie Pellacani angenommen hat, dagegen lösen sich beide Säuren entgegen Pellacani's Angabe in Aether. Das Vorhandensein einer zweiten nicht krystallisirten gepaarten Glykuronsäure haben wir niemals beobachtet. Eine solche wäre uns insbesondere bei der Aufarbeitung über das Baryumsalz kaum entgangen. Die gegentheilige Angabe Pellacani's dürfte darauf zurückzuführen sein, dass derselbe ein Gemenge der krystallisirenden Säure mit Essigsäure in Händen gehabt hat. Die Substanz endlich, welche Pellacani als ein Spaltungsprodukt der Borneolglykuronsäure beschreibt, welche sich in Aether löst, aus Wasser umkrystallisirt werden kann und dem Campherol in vielen Punkten gleichen soll, ist höchst wahrscheinlich nichts anderes gewesen, als ungespaltene Borneolglykuronsäure. Pellacani hat diese Substanz nicht analysirt und augenscheinlich nicht vorausgesetzt, dass sich die gepaarte Säure in Aether leicht löst und aus Wasser umkrystallisiren lässt.