

Über das Schicksal des Vanillins im Tierkörper.

Von

Y. Kotake.

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität zu Kyoto.)
(Der Redaktion zugegangen am 2. Juni 1905.)

Preusse¹⁾ hat zuerst das Verhalten des Vanillins im tierischen Organismus untersucht und er ist zu dem Resultate gelangt, daß das verabreichte Vanillin zu Vanillinsäure oxydiert wird, welche zum größten Teile gepaart als Ätherschwefelsäure, in geringer Menge als freie Säure im Harn auftritt. Bei dieser Untersuchung hat er es nicht versäumt, seine Aufmerksamkeit auf einen die Polarisationssebene drehenden oder Kupferoxyd reduzierenden Körper zu richten, doch ist es ihm nicht gelungen, eine Spur einer derartigen Verbindung im Harn aufzufinden.

So interessant und lehrreich die Beobachtung Preusses in betreff der Bildung von Ätherschwefelsäure nach Vanillinfütterung ist, so trifft doch seine Angabe über das Fehlen der linksdrehenden Substanz im Harn unter denselben Verhältnissen nicht zu. Denn Prof. Araki teilte mir mit, daß er, als er Kaninchen zum Zwecke anderweitiger Untersuchungen Vanillin beigebracht hatte, danach das Auftreten von einem linksdrehenden Körper im Harn gesehen habe. Die Darstellung dieses linksdrehenden Körpers und die Ermittlung der Eigenschaften und Konstitution desselben bilden den Gegenstand der folgenden Untersuchung.

Als Versuchstier benutzte ich Kaninchen. Das zu den Versuchen verwendete Vanillin war in feinen farblosen Nadeln kristallisiert, deren Schmelzpunkt bei 81° C. lag. Dieses Präparat wurde Kaninchen 3 bis 4 Tage lang in Dosen von 2 g pro die, in Wasser aufgeschwemmt, mittels des Schlundrohrs in den Magen eingeführt.

¹⁾ Preusse, Diese Zeitschrift, Bd. IV, S. 213.

Der nach Eingabe von Vanillin entleerte Harn drehte stets die Ebene des polarisierten Lichtes nach links: er reduzierte alkalische Kupferoxydlösung nicht, wohl aber trat Reduktion ein nach dem Kochen mit verdünnten Mineralsäuren. Die sonstigen Eigenschaften des Vanillinharns stimmten völlig mit den Angaben von Preusse überein.

Darstellung des linksdrehenden Körpers.

Nachdem ich durch einen besonderen Versuch festgestellt hatte, daß der in Rede stehende Körper nicht durch neutrales, wohl aber durch basisches Bleiacetat fast quantitativ gefällt wird, verfuhr ich wie folgt: Der Harn wurde mit neutralem Bleiacetat gefällt, filtriert und dann vorsichtig mit basischem Bleiacetat versetzt. Der mit basischem Bleiacetat erhaltene Niederschlag wurde nach der Vorschrift von E. Fromm und P. Clemens¹⁾ mit Baryumsulfid zerlegt und das vom Schwefelblei befreite Filtrat im Vacuum bei 33—40° C. eingeeengt. Aus dieser eingeeengten Flüssigkeit wurde die Baryumverbindung des gesuchten Körpers durch Zusatz von Alkohol gefällt und durch wiederholte Auflösung in Wasser und Umfällung mit Alkohol gereinigt.

Die Versuche für die Gewinnung der freien linksdrehenden Säure, die in großer Anzahl ausgeführt wurden, scheiterten daran, daß die Säure im freien Zustande nicht sehr beständig war und darum nicht völlig gereinigt werden konnte. Ich faßte deshalb den Entschluß, durch die Untersuchung des Baryumsalzes, welches wegen der Einfachheit seiner Darstellung den Vorzug vor den anderen Salzen hat, einen Aufschluß über die Eigenschaften und Konstitution der Säure zu erstreben.

Eigenschaften und Konstitution des linksdrehenden Körpers.

Das gereinigte Baryumsalz der gesuchten Substanz bildete ein weißes Pulver. In Wasser löste es sich sehr leicht und im frisch gefällten Zustande war es hygroskopisch. In Alkohol und Ather war es unlöslich.

¹⁾ E. Fromm und P. Clemens, Diese Zeitschrift, Bd. XL, S. 255.

Das Baryumsalz gab mit Phloroglucin und Salzsäure die Reaktion der gepaarten Glukuronsäure. Das Kupferoxyd in alkalischer Lösung wurde nicht durch die Substanz reduziert.

Die Analysen des Baryumsalzes gaben folgende Werte:

0,2176 g der bei 100° C. getrockneten Substanz mit Schwefelsäure abgeraucht gaben 0,1030 g BaSO₄ = 27,86% Ba.

0,2250 g Substanz bei 100° C. getrocknet und mit Schwefelsäure abgeraucht lieferten 0,1069 g BaSO₄ = 27,96% Ba.

0,2001 g der bei 100° C. getrockneten Substanz in Wasser gelöst und mit Schwefelsäure gefällt gaben 0,0935 g BaSO₄ = 27,51% Ba.

0,2288 g der bei 100° C. getrockneten Substanz in Wasser gelöst und mit Schwefelsäure gefällt gaben 0,1071 g BaSO₄ = 27,55% Ba.

0,1919 g Substanz (im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet) gaben 0,2380 g CO₂ = 33,83% C und 0,0669 g H₂O = 3,87% H.

0,2002 g der im Vacuum über Schwefelsäure getrockneten Substanz gaben 0,2466 g CO₂ = 33,59% C und 0,0702 g H₂O = 3,90% H.

0,2320 g der bei 100° C. getrockneten Substanz gaben 0,2869 g CO₂ = 33,73% C und 0,0726 g H₂O = 3,48% H.

Es werden gefunden:

	1	2	3	4	5	6	7	Mittel:
C	—	—	—	—	33,83	33,59	33,73	33,72
H	—	—	—	—	3,87	3,90	3,48	3,75
Ba	27,86	27,96	27,51	27,55	—	—	—	27,72

Die Analysen stimmen, wie aus der obigen Zusammensetzung zu erschen ist, ziemlich gut miteinander überein. Aus den Mittelwerten berechnet sich folgende Formel:

Berechnet für BaC ₁₄ H ₁₆ O ₁₁ :	Gefunden:
C 33,78%	33,72%
H 3,22%	3,75%
Ba 27,62%	27,72%

Die spezifische Drehung des Baryumsalzes in wässriger Lösung wurde mittels eines Landoltschen Circumpolarisationsapparates aus der Werkstätte von Fr. Schmidt und Hänsch bestimmt.

Gehalt an Substanz in 100 g Lösung = 1,6160 g: spezifisches Gewicht der Lösung = 1,0129: Rohrlänge = 1 dm: beobachtete Drehung bei 19,5° C. = — 0,62. Daraus ergab sich:

$$[\alpha]_D = - 37,94^\circ.$$

Aus den analytischen Daten und den geschilderten Eigenschaften läßt sich mit großer Wahrscheinlichkeit schließen, daß die linksdrehende Substanz eine gepaarte Glukuronsäure ist, die ich vorläufig als Glukurovanillinsäure bezeichnen will. Zur Feststellung der Konstitution war die Untersuchung der Spaltungsprodukte derselben nötig.

Spaltung.

20 g des Baryumsalzes wurden mit 400 ccm 5%iger Schwefelsäure übergossen, von gebildetem Baryumsulfat abfiltriert und dann 6 Stunden lang am Rückflußkühler auf dem Sandbade gekocht. Das Reaktionsgemisch wurde mit Äther in der Schüttelmaschine auf das gründlichste extrahiert und die Ätherauszüge destilliert. Es hinterblieb eine gefärbte kristallinische Substanz, welche durch Umkristallisation aus heißem Wasser unter Zusatz von Tierkohle gereinigt wurde.

Die gereinigte Substanz kristallisierte in feinen Nadeln, welche bei 207° C. schmolzen und unzersetzt sublimierten; sie löste sich schwer in kaltem, leichter in heißem Wasser; in Alkohol und Äther war sie leicht löslich. Die Lösung reagierte stark sauer.

Die Elementaranalyse und Molekulargewichtsbestimmung der bei 105° C. getrockneten Substanz ergaben Zahlen, welche für Vanillinsäure gut stimmen:

0,2159 g Substanz gaben 0,4496 g CO₂ = 56,79% C

und 0,0902 g H₂O = 4,64% H.

0,2529 g Substanz gaben 0,5274 g CO₂ = 56,87% C

und 0,1053 g H₂O = 4,62% H.

Die Molekulargewichtsbestimmung wurde nach der Gefriermethode von Beckmann ausgeführt unter Anwendung von Eisessig als Lösungsmittel.

Eisessig	Substanz	Δ	Gefundenes Molekulargewicht	
25,95 g	0,1550 g	— 0,145	161	
	Berechnet für		Gefunden:	
	C ₈ H ₈ O ₄ :		1.	2.
	C	57,14%	56,79%	56,87%
	H	4,76%	4,64%	4,62%
	Molekulargewicht:	168	161	—

Die mit Äther erschöpfte Flüssigkeit wurde zunächst mit Barytwasser, dann mit Baryumkarbonat neutralisiert, filtriert und bei 40° C. eingeeengt. Aus der eingeeengten Lösung wurde das Kaliumsalz durch Umsetzung des Baryumsalzes mit Hilfe von Kaliumsulfat dargestellt.

Das Kaliumsalz kristallisierte in feinen Nadeln und war leicht löslich in Wasser, unlöslich in Alkohol und Äther. Die wässrige Lösung reduzierte alkalische Kupferoxydlösung beim Kochen und drehte stark die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts.

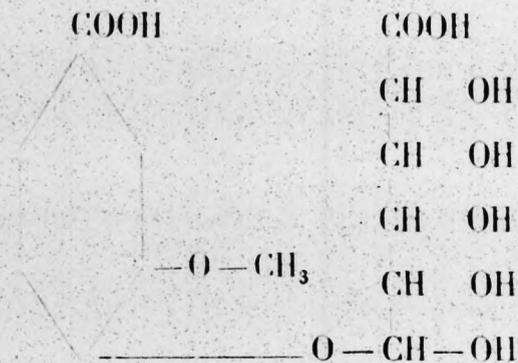
Die im Vacuum über Schwefelsäure bei 95° C. getrockneten Kristalle gaben bei der Analyse folgende Werte:

0,2032 g Substanz mit Schwefelsäure abgeraucht gaben 0,0751 g K_2SO_4
= 16,60% K.

0,2178 g Substanz gaben 0,2459 g CO_2 = 30,79% C und 0,0762 H_2O
= 3,89% H.

Berechnet für $C_6H_9O_7K$:	Gefunden:
C 31,01%	30,79%
H 3,88%	3,89%
K 16,86%	16,60%

Somit ist mit Sicherheit erwiesen, daß beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure die Glukurovanillinsäure als Spaltungsprodukte Vanillinsäure und Glukuronsäure gibt. Da nun außer diesen zwei Säuren keine andere Verbindung im Reaktionsgemisch nachzuweisen war, und da auf Grund der Analysen dem glukurovanillinsauren Baryum die Formel: $BaC_{14}H_{16}O_{11}$ zukommt, so wird es wohl nicht zu gewagt erscheinen, wenn wir die Konstitution der Glukurovanillinsäure durch die folgende Formel ausdrücken wollen:



Sollte diese Konstitutionsformel zutreffend sein, so würde die Spaltung der Glukurovanillinsäure scheinbar ohne Wasser-

aufnahme erfolgen. Es liegen einzelne Beobachtungen vor, die dafür sprechen, daß die Bildung von gepaarten Glukuronsäuren ohne Austritt von Wasser stattfinden und die Spaltung derselben auch ohne Aufnahme von Wasser verlaufen kann. So hat Blum¹⁾ gezeigt, daß bei der Spaltung der Dichlorthymolglukuronsäure das Dichlorthymol und die Glukuronsäure ohne Wasseraufnahme entstehen. Dieser Befund ist von Hata und Katsuyama²⁾ bestätigt und erweitert worden. v. Fenivessy³⁾ hat ferner beobachtet, daß die Paarung des Carbestyrils an Glukuronsäure im Tierkörper ohne Wasseraustritt vor sich geht. Was die Erklärung dieser merkwürdigen Erscheinungen anbetrifft, so glaube ich mit Blum annehmen zu müssen, daß die Aldehydgruppe der Glukuronsäure zunächst ins Hydrat $\text{CH}(\text{OH})_2$ verwandelt und das letztere unter Wasserabspaltung mit den zugehörigen Alkoholen in Reaktion getreten ist, und daß bei der Spaltung der auf diese Weise gebildeten gepaarten Glukuronsäuren nicht das Glukuronsäurehydrat, sondern die gewöhnliche Glukuronsäure auftritt.

Die Resultate der vorliegenden Arbeit lassen sich in folgende Sätze zusammenfassen:

1. Das Vanillin wird im Tierkörper zu Vanillinsäure oxydiert und die letztere zum Teile an Glukuronsäure gepaart und im Harn ausgeschieden.
2. Die Glukurovanillinsäure wird aus ihrer Lösung durch den Zusatz von basischem Bleiacetat gefällt: sie ist linksdrehend und reduziert nicht alkalische Kupferoxydlösung.
3. Die Glukurovanillinsäure wird beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure unter Bildung von Vanillinsäure und Glukuronsäure gespalten.

¹⁾ Blum, Diese Zeitschrift, Bd. XVI, S. 514.

²⁾ Hata und Katsuyama, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXXI, S. 2583.

³⁾ v. Fenivessy, Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 552.