

Über die Resorptionsfähigkeit von Guajakolhexamethylentetramin (Hexamecol) durch die Haut, sowie über eine neue Methode zum Guajakolnachweis im Harn.

Von

O. Sammet.

(Aus dem agrikulturchemischen Laboratorium der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich.)

(Der Redaktion zugegangen am 6. Mai 1914.)

Die im Laufe der letzten zwei Jahrzehnte von der chemischen Industrie auf den Markt gebrachten Guajakolpräparate sind allmählich zu einer stattlichen Anzahl angewachsen. Ein Teil dieser neueren Präparate sucht lediglich gewisse, dem reinen Guajakol anhaftende unangenehme Eigenschaften, wie Geschmack, Ätzwirkung auf den Darm usw. zu umgehen, andere Präparate bringen das Guajakol mit einer weiteren, ebenfalls wirksamen Komponente in chemische Bindung. Den letzteren zuzuzählen ist das Guajakolhexamethylentetramin, das unter dem wortgeschützten Namen Hexamecol von Hoffmann, La Roche & Co. in Basel in abgeteilten Dosen von 2 g in den Handel gebracht wird. Das Präparat stellt weiße, seidenglänzende Nadeln dar von leichtem Guajakolgeruch. Vom theoretischen Standpunkt aus muß das Hexamecol als eine sehr glückliche Kombination bezeichnet werden, insofern als bei Verabreichung dieses Präparates im Organismus alsdann die Guajakol- neben der Formaldehydwirkung zum Ausdruck kommt, vorausgesetzt, daß das Hexamecol im Organismus in Guajakol und Hexamethylentetramin und letzteres weiter in Formaldehyd und Ammoniak aufgespalten wird. Das Präparat soll nach der der Packung beiliegenden Anweisung auf die Haut eingerieben werden. Warum das Präparat nicht die übliche Anwendung per os findet, konnte ich nicht in Erfahrung bringen. Da im allgemeinen die Ansicht verbreitet ist, daß pulverförmige Körper die Haut nicht zu passieren imstande sind, so unternahm ich einige Einreibungsversuche mit Hexamecol an mir selbst, um festzustellen, ob das Präparat von der Haut aus in den Körper aufgenommen

wird oder nicht. Die abgeteilte Dosis (2,0) wurde abends beim Schlafengehen an beiden Oberarmen, auf Brust und Unterleib, sowie den beiden Oberschenkeln eingerieben. Dabei konstatierte ich, daß das Pulver auch beim intensiven Einreiben nur ganz allmählich von der Haut aufgenommen wird. Etwas rascher geht die Aufnahme, wenn man die Haut vor dem Einreiben anfeuchtet. Ich habe auf diese Weise an drei aufeinanderfolgenden Tagen jeweils abends eine Dosis Hexamecol eingerieben; der an den darauffolgenden Tagen ausgeschiedene Harn wurde gesammelt und zusammen verarbeitet. Da bei diesem ersten Versuche mit Hexamecol beim Guajakolnachweis sich Schwierigkeiten einstellten (auf die ich weiter unten zu sprechen komme), so unternahm ich etwas später nochmals zusammen mit einer zweiten Versuchsperson weitere Resorptionsproben. Auch in diesem Falle wurde jeweils abends eine Portion (2,0) von jeder Versuchsperson auf die angefeuchtete Haut eingerieben, von mir an drei aufeinander folgenden Tagen, von einem mir befreundeten Herrn (dem ich für seine Aufopferung auch an dieser Stelle meinen Dank aussprechen möchte) an zwei aufeinander folgenden Tagen. Der an den darauf folgenden Tagen ausgeschiedene Harn wurde zusammen gesammelt und auf die Anwesenheit von Guajakol und Formalin geprüft.

Sowohl beim ersten als auch beim zweiten Resorptionsversuche konnte mit der weiter unten beschriebenen Verseifungsmethode mit Jodwasserstoffsäure unzweideutig Guajakol nachgewiesen werden. Bei dem zweiten Resorptionsversuche wurde neben Guajakol auch der Nachweis von Hexamethyltetramin im Harn erbracht. Derselbe gestaltete sich folgendermaßen: Die Hälfte des bei dem zweiten Resorptionsversuche gewonnenen Harnes wurde mit Ammoniak alkalisch gemacht (um evtl. vorhandenes Formalin in Hexamethyltetramin überzuführen) und im Vakuum (40—45°) zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wurde mit frisch geglühtem Natriumsulfat vermischt, im Exsikkator über Schwefelsäure noch weiter getrocknet, alsdann mit Sand zerrieben und im Soxhletapparat mit Chloroform erschöpft. Die nach dem Abdestillieren des Chloroforms zurückgebliebenen festen Bestandteile wurden in absolutem Al-

kohol aufgenommen, die Lösung mit Chlorwasserstoffgas gesättigt, abfiltriert und destilliert, worauf mit dem Destillate Formaldehydreaktionen angestellt wurden. Die Proben mit ammoniakalischer Silbernitratlösung, mit Phenylhydrazin und Kalilauge, mit Phenylhydrazin und Eisenchlorid + Schwefelsäure, mit Natriumnitroprussidlösung und Kalilauge fielen alle positiv aus. Durch den Nachweis des Guajakols wie auch des Hexamethylentetramins im Harn dürfte somit der Beweis erbracht sein, daß das Hexamecol, wenn dasselbe intensiv in die angefeuchtete Haut eingerieben wird, von der Haut aus in den Organismus aufgenommen wird.

Was den Guajakolnachweis im Harn anbetrifft, so ging ich bei meinen Versuchen zunächst derart vor, daß ich den Harn mit 5%iger Schwefelsäure versetzte und mit Wasserdampf solange destillierte, als noch Phenole übergingen (Nachweis mit frischbereiteten Millons Reagens). Aus dem Destillate schüttelte ich die Phenole mit Äther aus, trocknete den Ätherauszug mit entwässertem Natriumsulfat und destillierte den Äther ab. Mit dem bei der Ätherdestillation zurückgebliebenen hellbraunen, aromatisch riechenden, ölartigen Rückstande wurden alsdann die üblichen Guajakolreaktionen angestellt. Dabei kam ich zu dem überraschenden Resultate, daß die meisten zum Guajakolnachweis gebrauchten Reagentien zur Feststellung des Guajakols im Harn ungeeignet sind, weil das auf die geschilderte Weise dem Harndestillat durch Äther entzogene Guajakol stets durch die normalerweise im Harn vorkommenden Phenole (vorwiegend p-Kresol neben Phenol und gelegentlich vorkommenden Spuren von o- und m-Kresol) verunreinigt ist. Gewisse Guajakolreaktionen, wie Pikratbildung in alkoholischer Lösung, Fällung mit basischem Bleiacetat, Liebermannsche Reaktion, welche bekanntermaßen sowohl von Guajakol als auch von den normalen Harnphenolen gegeben werden, sind natürlich von vornherein auszuschalten. Aber auch andere für Guajakol bisher als typisch betrachtete Reaktionen sind für den Guajakolnachweis im Harn meist nicht geeignet. So gibt z. B. die für den Guajakolnachweis wohl am häufigsten benützte Eisenchloridreaktion nicht nur

mit Guajakol in alkoholischer Lösung Grünfärbung, sondern auch mit Phenol, sowie mit p-Kresol, wobei allerdings die durch Phenol und p-Kresol erzeugte Färbung im Gegensatz zu der durch Guajakol erzeugten smaragdgrünen Farbe mehr olivgrün ist. In wässriger Guajakollösung entsteht auf Zusatz von FeCl_3 zuerst eine blaue, rasch in braun übergehende Färbung, während Phenol und Kresol eine bleibende blauviolette Färbung erzeugen. Destilliert man normalen angesäuerten Harn, äthert im Destillate die Harnphenole aus und destilliert den Äther ab (ich bezeichne dieses bei der Destillation zurückbleibende Phenolgemisch im folgenden der Einfachheit halber als «normale Harnphenole»), so geben diese «normalen Harnphenole» in alkoholischer Lösung mit Eisenchlorid eine grünbraune Färbung, die nach kurzer Zeit, je nach der Konzentration der Lösung, in gelbbraun bis braun übergeht. Die wässrige Lösung der «normalen Harnphenole» gibt mit Eisenchlorid zuerst Blauviolett färbung, die sehr rasch einer braunen Verfärbung Platz macht. Die «normalen Harnphenole» sind, wie aus dem Gesagten zu ersehen, leicht geeignet, bei der Eisenchloridreaktion einen Guajakolgehalt im Harn vorzutauschen. Ähnlich wie bei der Eisenchloridreaktion liegen die Verhältnisse bei der Marforischen Reaktion⁽¹⁾: 10 Tropfen Schwefelsäure geben mit 1 Tropfen Guajakol Gelbfärbung,¹⁾ welche nicht in rot übergehen darf. Auch die «normalen Harnphenole» geben in dem genannten Mischungsverhältnis eine gelblichbraune Färbung, bei Zusatz von mehr Harnphenolen geht die Farbe ins braunrötliche über.

Auch die von Hartwich und Winkel⁽²⁾ angegebene Guajakolreaktion (mit Vanillinsalzsäure = Rotfärbung) eignet sich für den Nachweis von Guajakol im Harn nicht, da außer Guajakol auch Phenol, m-Kresol, sowie die «normalen Harnphenole» Rotfärbung geben, nicht dagegen p-Kresol allein.

Nach Poggi⁽³⁾ gibt Guajakol in wässriger Lösung, resp. das Guajakol enthaltende Harndestillat mit ammonia-

¹⁾ Reines Guajakol mit reiner Schwefelsäure bleibt zuerst absolut farblos, erst nach längerer Zeit (20—30 Minuten) stellt sich eine schwach gelbliche Färbung ein.

kalischer Silbernitratlösung eine gelbgrüne Trübung, die beim Erwärmen stärker hervortritt, doch wird diese Reaktion auch von «normalen Harnphenolen» ausgelöst. Etwas eindeutiger ist die ebenfalls von Poggi (3) vorgeschlagene Reaktion mittels Chromsäure. Eine wässrige Guajakollösung gibt mit einer 1—2%igen Chromsäurelösung zunächst eine orangebraune Färbung und sodann einen kermesroten Niederschlag; die «normalen Harnphenole» geben mit Chromsäurelösung zunächst einen gelbbraunlichen Farbton, worauf sich dann bei längerem Stehen ein geringer gelbbrauner, schmieriger Niederschlag absetzt. Immerhin ist es bei ganz kleinen Guajakolmengen nicht leicht zu unterscheiden, ob die Reaktion als positiv oder negativ zu bezeichnen ist. Ähnlich wie mit dieser Probe steht es mit der Bromwasserreaktion (3). Bromwasser gibt mit Guajakollösungen einen orangeroten, rasch kaffeebraun werdenden Niederschlag, während Phenol und die Kresole bekanntlich eine weiße Fällung erzeugen. «Normale Harnphenole» geben mit Bromwasser meist einen gelbweißen Niederschlag, der aber gelegentlich auch einen Stich ins rötliche annehmen kann, wodurch dann leicht die Anwesenheit geringer Guajakolmengen vorgetäuscht wird.

Ebensowenig gibt das p-Nitrodiazobenzol, welches von Knapp (5) zur Guajakoltitration vorgeschlagen wurde, mit Guajakol einen spezifischen Niederschlag, ganz ähnlich gefärbte Niederschläge werden außer von Guajakol auch von Phenol, sowie den Kresolen erzeugt. Es werden demzufolge bei der Knappschen Guajakoltitrationmethode die «normalen Harnphenole» mitbestimmt.

Wie aus dem Gesagten hervorgeht, genügen die angeführten Reaktionen nicht zum einwandfreien Nachweis geringer Mengen Guajakols im Harn. Am geeignetsten erscheint es mir, den Nachweis des Guajakols auf der Verseifbarkeit desselben mit rauchender Jodwasserstoffsäure (4) aufzubauen. Die normalerweise im Harn vorkommenden Phenole stören dabei keineswegs. Ich ging für den Guajakolnachweis jeweils folgendermaßen vor:

Der zu prüfende Harn wurde mit 5%iger Schwefelsäure

angesäuert und im Dampfstrom die aus den gepaarten Verbindungen abgespaltenen Phenole inkl. Guajakol überdestilliert. Das Harndestillat wurde alsdann mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherauszüge mit Natriumsulfat getrocknet und der Äther abdestilliert. Der dabei bleibende Rückstand wurde mit konzentrierter Jodwasserstoffsäure einige Zeit am Rückflußkühler gekocht, das Gemisch mit Wasser verdünnt, worauf aus der Lösung das entstandene Brenzkatechin ausgeäthert wurde. Nach dem Verdampfen des Äthers wurde der Rückstand in Wasser aufgenommen und das Brenzkatechin durch die üblichen Reaktionen (FeCl_3 , AgNO_3 usw.) nachgewiesen. Es ist darauf zu achten, daß auch bei Abwesenheit von Brenzkatechin der Rückstand nach dem Aufnehmen in Wasser auf Zusatz von Eisenchlorid gelegentlich eine schwache grünlichbraune Färbung zeigt, dieselbe kann jedoch niemals mit der intensiv smaragdgrünen Farbe bei Anwesenheit von Brenzkatechin verwechselt werden, auch erfolgt bei Zusatz von Natriumcarbonat bei Abwesenheit von Brenzkatechin kein Umschlag in Violetrot. Weniger eindeutig ist die Reaktion des Rückstandes mit ammoniakalischer Silbernitratlösung. Auch bei Abwesenheit von Brenzkatechin geben die bei der Verseifung aus normalem Harnphenolgemisch entstehenden harzigen Produkte mit ammoniakalischer Silbernitratlösung geringe Dunkelfärbung. Bei Anwesenheit größerer Guajakolmengen im Harn kann übrigens das Brenzkatechin nach der Verseifung mit Jodwasserstoffsäure aus dem Ätherückstand leicht in reiner Form gewonnen und durch Schmelzpunktsbestimmung noch weiter identifiziert werden. Wird die Verseifung des Guajakols in einem Zeisselapparat¹⁾ vorgenommen, so kann auch noch die abgespaltene Methyljodidgruppe durch Einleiten in alkoholische Silbernitratlösung (Bild. von AgJ) zum Guajakolnachweise dienen, doch darf alsdann das Ausschütteln des Harndestillates nicht mit Äthyläther erfolgen, sondern muß mit Petroläther oder Chloroform vorgenommen werden, weil bei Verwendung von Äthyläther auch bei der Verseifung normaler Harnphenole eine Trübung der Silber-

¹⁾ Details bei: Hans Meyer, Konstitutionsermittlung organ. Verbindungen. Springers Verlag. 1903.

nitratlösung stattfindet. Dieselbe ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß geringe Spuren von Äthyläther durch die Phenole sehr fest zurückgehalten werden und bei der Verseifung mit Jodwasserstoffsäure alsdann Äthyljodid bilden.

Da die bisherigen ziemlich ungenauen quantitativen Guajakolbestimmungsmethoden im Harn eine genaue Methode wünschenswert erscheinen lassen, so versuchte ich obige qualitative Verseifungsmethode mit Jodwasserstoffsäure auch zur quantitativen Guajakolbestimmungsmethode im Harn auszuarbeiten. Ich ging dabei ähnlich wie oben beschrieben vor. Ein aliquoter Teil des gesammelten Harns wurde angesäuert und im Dampfstrom destilliert, bis keine Phenole mehr übergangen. Das Destillat wurde mit Petroläther oder Chloroform ausgeschüttelt, der Äther resp. das Chloroform abdestilliert; der Rückstand in ein Zeisselkölbchen gebracht, mit Jodwasserstoffsäure verseift und das abgespaltene Methyljodid in alkoholischer Silbernitratlösung aufgefangen. Nach Beendigung des Verseifungsprozesses wurde die Silbernitratlösung mit dem Niederschlage in eine Porzellanschale gespült, mit Wasser verdünnt, der Alkohol abgedampft und das nunmehr aus der Doppelverbindung $\text{AgNO}_3 \cdot \text{AgJ}$ abgespaltene Silberjodid auf einem Gooch-Tiegel gesammelt, getrocknet und gewogen. Bei einer Reihe von Kontrollversuchen, die ich anstellte, indem ich normalem Harn eine abgewogene Menge reinen Guajakols zusetzte und alsdann auf die beschriebene Weise das Guajakol bestimmte, erhielt ich eine stets viel zu geringe Ausbeute. Dieselbe schwankte zwischen 65–85% der zugesetzten Guajakolmenge und zwar war die Ausbeute um so geringer, je mehr Petroläther resp. Chloroform zum Ausschütteln und Abdestillieren gebraucht worden war. Der Grund der schlechten Ausbeute ist darin zu suchen, daß Guajakol mit Äther- sowie Chloroformdämpfen flüchtig ist. Ich habe mich von dieser Tatsache in einer größeren Reihe von Versuchen überzeugt. Einen Faktor für diese Verluste je nach der Quantität der angewandten Petroläther- resp. Chloroformmenge einzusetzen, ist nicht möglich, da die Verluste je nach der Abdampfungsgeschwindigkeit, resp. der Abdampfungstemperatur usw. differieren.

Da dieser Weg, das Guajakol aus dem Destillate auszuschütteln, nicht zu dem gewünschten Resultate geführt hatte, so versuchte ich das Guajakol (inkl. der weiteren Phenole) in dem aus dem angesäuerten Harn gewonnenen Destillate durch basische Bleiacetatlösung zu fällen und den Niederschlag durch Jodwasserstoffsäure zu verseifen. Aber auch diese Prozedur führte zu keinem ersprießlichen Ziele, wenigstens ermunterten mich die auf diese Weise berechneten Guajakolresultate nicht zu weiteren Proben. Zuletzt machte ich noch einige Versuche, indem ich das gewonnene, guajakolhaltige, aus angesäuertem Harn gewonnene Destillat mit Natron- resp. Kalilauge stark alkalisch machte, bis auf einige Kubikzentimeter eindampfte und sodann dieses Alkaliguajakolat mit Jodwasserstoffsäure verseifte. Auch die auf diese Weise gewonnenen Ergebnisse waren nicht quantitativ, offenbar ist das Guajakol mit Wasserdämpfen trotz reichlichen Alkaliüberschusses flüchtig. Ein weiterer Versuch, aus dem Destillate durch Eindampfen mit $\text{KOH} + \text{FeCl}_3$ ein komplexes Kalieisenguajakolat herzustellen und dieses mit Jodwasserstoffsäure zu verseifen, führte ebenfalls zu keinem befriedigenden Resultate.

Soweit sich aus meinen obigen Versuchen Schlüsse ziehen lassen, eignet sich die Verseifungsmethode mit Jodwasserstoffsäure sehr gut zum qualitativen, jedoch nicht zum quantitativen Nachweise des Guajakols im Harn.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. E. Winterstein für die Anregung zu dieser Arbeit, sowie für seine Unterstützungen bei Ausführung derselben meinen verbindlichsten Dank auszudrücken.

Literatur.

1. Marfori, Chem. Centralblatt, Bd. 2, S. 155 [1890].
2. Hartwich u. Winkel, Archiv d. Pharmazie, Bd. 242, S. 464 [1904].
3. Poggi, Annali di chim. et di Farm., Bd. 17, S. 3 [1891].
4. Müller H., Jahresberichte über Fortschritte der Chemie, 1864, S. 525.
5. Knapp u. Suter, Archiv f. exper. Pathol. u. Pharmakol., Bd. 50, S. 332 [1903], sowie Th. Knapp, Schweiz. Wochenschr. f. Chemie u. Pharm., Bd. 49, S. 248 [1911].