

Über das Schicksal des Tetrahydronaphthalins (Tetralins) im Tierkörper.

Von

Julius Pohl und Margarete Rawicz.

(Aus dem pharmakologischen Institute Breslau.)
(Der Redaktion zugegangen am 11. November 1918.)

Die Paarung organischer Stoffe an Glykuronsäure ist eine so allgemein verbreitete, daß Neubauer¹⁾ sie zusammenfassend dahin formulierte: „sämtliche Alkohole, Ketone, ungesättigte Kohlenwasserstoffe, Aldehyde, sowohl der Fettreihe wie in cyklischen Verbindungen können in gepaarte Glykuronsäuren übergehen“. Seitdem ist die Mitteilung eines Einzelfalls dieser Paarung nur dann gerechtfertigt, wenn der Paarling durch irgend eine Eigenschaft von Interesse ist, oder wenn bei der Ausscheidung ganz besondere Verhältnisse, sei es biologischer oder analytischer Art, gegeben sind.

Von diesem Gesichtspunkte aus möge gestattet sein, Erfahrungen, die wir über das Schicksal des Tetrahydronaphthalin=Tetralin $C_{10}H_{12}$ gemacht haben, zu veröffentlichen. Seit Dezember 1917 hat uns ein genügendes Quantum des zwar schon längst bekannten, aber erst durch ein Patentverfahren Schroeters in großen Mengen darstellbaren Tetrahydronaphthalin=Tetralin zur Verfügung gestanden. Wir stellten unsere Versuche — aus Kriegsgründen — vorwiegend an Kaninchen an, nur einige wenige Versuche sind am Hunde oder Menschen durchgeführt. Während wir mit Abschluß und Zusammenstellung der Befunde beschäftigt waren, erschien im Mai 1918 die das gleiche Thema behandelnde Arbeit von

¹⁾ Arch. f. experim. Pat. u. Pharmakologie Bd. 46.

S. Schroeter und K. Thomas¹⁾, die über Beobachtungen am Hunde berichtet, aber das Tetralinthema durchaus nicht erschöpft.

Das Tetralin ist nicht ganz ungiftig, aber jedenfalls nur schwach toxisch. Kaninchen von 2 kg vertragen die stomachale Injektion von 5—6 g ohne äußere Symptome, kleinere Tiere bekommen Durchfall und gehen unter Narkoseerscheinungen ein. Der Harn mehrerer Tiere wurde durch 3—4 Tage gesammelt. Am ersten Tage wird eine Exhalation des Tetralins beobachtet. Der ausgeschiedene Harn ist der Norm gegenüber dunkelgrün verfärbt, erinnert an die Farbe des Phenolharns.

I. Tetralin-Glykuronsäure.

Von vornherein war daran zu denken, daß der gereichte Kohlenwasserstoff in oxydierter Form, entweder an Glykuronsäure oder Schwefelsäure gepaart oder als Kohlensäure ausgeschieden werde. Tatsächlich ist der erstere Fall gegeben: sowohl beim Kaninchen als beim Hund ist nach Tetralin nur eine gepaarte Glykuronsäure nachweisbar. Der mit basischem Blei ausgefällte Harn zeigt keinen abnormen Bestandteil. Destilliert man den Harn bei nativer Reaktion, so ist im Destillat zumeist nichts Abnormes feststellbar. Erwärmt man ihn nach Versetzen mit verdünnter Mineralsäure, so trübt sich der Harn dicht; die Trübung ist in Äther und Alkohol löslich, sie besteht aus Spaltungsprodukten der Tetralinglykuronsäure. Die Harne drehen links, reduzieren direkt nicht, wohl aber nach dem Kochen mit Säure. Der mit neutralem Bleiazetat ausgefällte Harn gibt mit basischem Bleiazetat dichte Fällung. Zersetzt man die letztere Fällung mit Schwefelwasserstoff, engt nach dem Neutralisieren mit Kalilauge ein, fällt mit Alkohol und engt das alkoholische Filtrat ein, so resultieren nach Tagen Kristalldrüsen, die aus siedendem Alkohol unter Verwendung von Blutkohle gereinigt beim Erkalten als weiße, silberglänzende Blättchen ausfallen. Die Substanz ist N-frei, schmilzt von 255—261° C. (mit kurzem

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 101, S. 262.

Thermometer). Die Analysen wurden unter Zusatz von Kaliumbichromat und Bleichromat ausgeführt:

Analyse.

I. Substanz =	0,1527 g,	CO ₂ =	0,2811 g,	H ₂ O =	0,0785 g.
II. Substanz =	0,1569 g,	CO ₂ =	0,2906 g,	H ₂ O =	0,0823 g.
Berechnet für C ₁₀ H ₁₁ · CO · (CHOH) ₄ · COOK + 1 · H ₂ O:					
	% C		% H		
	50,53		5,53		
Gefunden I:	50,20		5,75		
II:	50,51		5,87.		

Auch aus Hundeharn konnten wir diese gepaarte Glykuronsäure in Form tadellos reiner Kristalle, Schmp. 256—258° C., und nur diese allein gewinnen.

Eine Aufklärung über die Zusammensetzung resp. Zeretzungsprodukte dieser gepaarten Glykuronsäure brachte uns eine neue, bisher unbekannte Reaktion derselben mit Alkalien. Versetzt man reinste gepaarte Glykuronsäure mit verdünnter Schwefelsäure, so trübt sie sich und in das Destillat geht anfangs und der Hauptmenge nach ein Öl über, das keine Farbreaktion mit KOH gibt; gegen den Schluß der Destillation geht mit den Wasserdämpfen ein Öl über, das, wenn auch schwach, doch eine sichere blau-violette Farbe mit alkoholischer Kalilauge gibt. Dieselbe Reaktion gibt, wie wir festgestellt, reinstes Dihydronaphthalin C₁₀ H₁₀. Bei der Intensität dieser Reaktion mit einer Spur Dihydronaphthalins kann es sich bei Tetralinglykuronsäure resp. bei den Spaltungsprodukten des Harns nur um geringe Mengen dieses Körpers handeln. Aus C₁₀ H₁₂ könnte C₁₀ H₁₁ OH gebildet werden, das, wie später gezeigt wird, durch Wasserabspaltung in Dihydronaphthalin übergeht.

II. Spaltungsprodukte der gepaarten Glykuronsäure.

Kocht man den auf etwa 300 ccm eingengten Tetralinharn mit 15—20 ccm verdünnter Schwefelsäure nur kurze Zeit, so tritt eine dichte Fällung auf, beim Abkühlen setzt sich ein Kristallbrei am Kolbenboden ab. Wäscht man den Kristallbrei am Filter neutral, destilliert nach Wasserzusatz, so setzen sich im Kühlrohr Kristalle ab, die nach Abstellung der Küh-

lung in die Vorlage gespült werden, daselbst wieder ausfallen; es sind dem Schmelzpunkt nach Naphthalinkristalle. Beim Hund fanden wir schon beim Einengen des nativen Harns (vom ersten Tag) also ohne Säurespaltung dieselben Kristalle (Schmp. 78—79° C., Mischschmelzpunkt mit reinem Naphthalin 78—79° C., reines Naphthalin 79—80° C.). Die Naphthalinmengen sind minimal¹⁾.

Durch Extraktion der Fällung der Säurespaltung im Harn mit siedendem Wasser gewinnt man einen Körper, der beim Erkalten in schneeweißen Kristallen ausfällt; er ist unlöslich in Alkalien, aus saurer Lösung mit Äther extrahierbar, unzersetzt sublimierbar, und zeigt, mit kurzem Thermometer geprüft, einen Schmelzpunkt von 215° C., mit langem von 210° C. Er ist stickstoffhaltig.

Analyse des „215°“-Körpers.

Substanz 0,1502 g gibt $\text{CO}_2 = 0,3807$, $\text{H}_2\text{O} = 0,1010$

Substanz 0,1465 g gibt Vol. N = 19,7 ccm bei 750 mm Druck-
Temp. = 21° C.

Berechnet für $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{ON}_2$

	% C	% H_2O	% N
	69,44	7,42	14,74
Gefunden	69,12	7,53	15,16.

Den Analysenwerten, dem Schmelzpunkt und den übrigen Eigenschaften nach ist die erhaltene Substanz identisch mit dem von Schroeter und Thomas in der eingangs zitierten Arbeit erhaltenen, als ac-Tetralylharnstoff erkannten und synthetisierten Körper. Als neu finden wir die Löslichkeit in siedendem Wasser und Äther, ferner die Sublimierbarkeit.

Erwärmt man Tetralylharnstoff vorsichtig mit verdünnter Schwefelsäure, so geht ein farbloses Öl in Tropfen mit Wasser über, das keine Alkalireaktion gibt. Die zurückbleibenden Kristalle werden nun weiter zur Entfernung des unangegriffenen Anteils zunächst mit heißem Wasser ausgekocht, dann mit heißem Alkohol aufgenommen; aus diesem kristallisiert in der Kälte nunmehr ein N-freier Körper; die wasser-

¹⁾ Auch nach Naphthalinfütterung ist Übergang freien Naphthalins in den Harn beobachtet worden. S. Neubauer-Huppert, Harnanalyse. 11. Auflage, S. 1472.

unlöslichen Kristalle zeigen jetzt den Schmelzpunkt 280° C., Mischschmelzpunkt mit direkt aus Harn gewonnenem 280° -Körper (siehe unten) = 280° C. Durch wiederholtes Umkristallisieren läßt sich der Schmelzpunkt auf 286 bringen. Es ist somit der Harnstoff abgespalten unter Bildung eines N-freien Zwischenkörpers. Auch beim Erhitzen des Tetralylharnstoffs in Wasser im geschlossenen Rohr auf 150° C. wurde ein Teil der Kristalle wasserunlöslich, zeigten den Schmelzpunkt 286° C. Bei Zimmertemperatur hingegen ändert sich derselbe weder in neutraler noch in saurer Lösung, selbst bei tagelangem Stehen nicht.

Denselben bei 286° schmelzenden N-freien Körper gibt der Rest des Kristallbreies aus dem mit Säure gekochten Harn:

Der bisher nur mit siedendem Wasser behandelte Kristallbrei wird nun mit heißem Alkohol extrahiert, die Lösung mit Kohle versetzt, heiß filtriert: in der Kälte fallen weiße Kristalle aus.

Der Körper ist unlöslich in kaltem, in heißem Wasser, unlöslich in Natronlauge (daher kein Phenol) und Säuren, schwer löslich in Äther, leicht in siedendem Alkohol.

Destilliert man den Körper mit Säuren, so geht mit den Wasserdämpfen eine so geringe Menge Öl über, daß seine Reinigung und Analyse scheiterte: spezifische Reaktionen gab es nicht.

Analysen des 286° -Körpers.

I. Substanz = 0,1525 g, CO_2 = 0,4448 g, H_2O = 0,1017

II. Substanz = 0,1238 g, CO_2 = 0,3637 g, H_2O = 0,0820

	C %	H %
Gefunden I.	79,55	7,46
II.	80,12	7,41.

Eine Formel läßt sich nach diesen Daten nicht aufstellen. Am nächsten stehen die Analysenwerte dem ac- α -Tetralol $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{OH}$ mit 81% C und 8,1% H; doch muß man auf Grund der Lösungsverhältnisse den Phenolcharakter ablehnen.

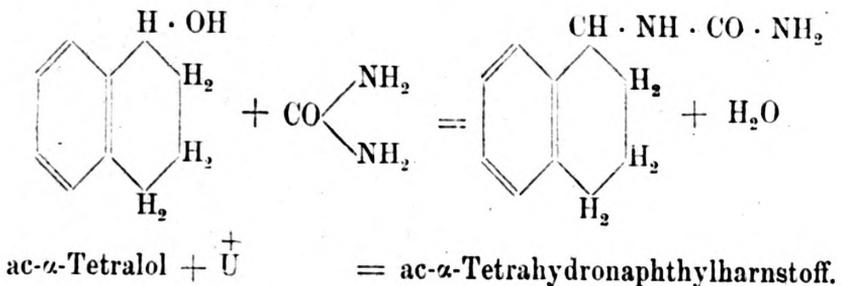
Der passive Übergang des Tetralylharnstoffs in den 286° -Körper war geeignet, Schwierigkeiten, die wir bei der Verarbeitung der Harne in der ersten Zeit hatten, aufzuklären,

ferner den wechselnden Gehalt verschiedener Tierharnen an diesen beiden Körpern verständlich erscheinen zu lassen: in der sauren Flüssigkeit entstandener Tetralylharnstoff wird bei verschieden langem Kochen in wechselndem Maße in den 286^o-Körper verwandelt. Letzterer ist somit ein sekundäres Produkt, das mit dem biologischen Betrieb des Organismus gar nichts zu tun hat. Dies gilt aber in gleichem Ausmaß vom Tetralylharnstoff selbst.

Die gepaarte Tetralinglykuronsäure wurde oben als N-frei erkannt. Wenn nun beim Kochen derselben in saurer Lösung im Harn ein N-haltiger Körper gewonnen wird, so muß derselbe einer sekundären Reaktion mit einem Harnbestandteil seine Entstehung verdanken.

Den zwingenden Beweis glauben wir in folgendem zu erblicken: kocht man reine Tetralinglykuronsäure vom Schmelzpunkt 256 mit 5% Harnstofflösung und etwas verdünnter Schwefelsäure, kühlt beim Entstehen einer hauchartigen Trübung sofort ab, so nimmt in der Kälte die Trübung zu, allmählich fallen deutliche Kristalle aus. Die Kristalle werden am Filter vollkommen säurefrei gewaschen, getrocknet und zeigen nunmehr den Schmelzpunkt 210° C., den typischen Schmelzpunkt des Tetralylharnstoffs. Mischschmelzpunkt mit aus Harn durch Säurekochen gewonnenem Tetralylharnstoff = 211° C.

Die sich abspielenden Vorgänge lassen sich in Anlehnung an Schroeter-Thomas' Formel wie folgt wiedergeben:



Die leichte Entstehung dieser Körper ist vielleicht von allgemeiner Bedeutung, weil hier ein bequemer Weg zur Gewinnung gewisser aromatischer Harnstoffe gegeben scheint.

Mit dem Nachweis, daß der ac- α -Tetrahydronaph-

thylharnstoff ein Kunstprodukt ist, werden natürlich alle Rückschlüsse auf vitale Bindung von Kohlenstoff an N-atome hinfällig.

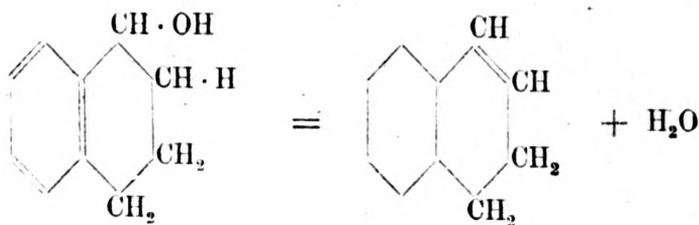
Die Bedeutung der Schroeter-Thomasschen Beobachtungen liegt vielmehr darin, daß durch sie eine Aufklärung der Konstitution des aromatischen Paarlings unserer Glykuronsäure gewonnen ist. Aus unseren Erfahrungen geht wohl sicher hervor, daß die vom Körper gebildete gepaarte Glykuronsäure Ausgangspunkt für die Bildung des substituierten Harnstoffs ist.

Unter Anlehnung an die Synthesen von Schroeter und Thomas folgt, daß die Formel der ursprünglichen Glykuronsäure nur sein kann:

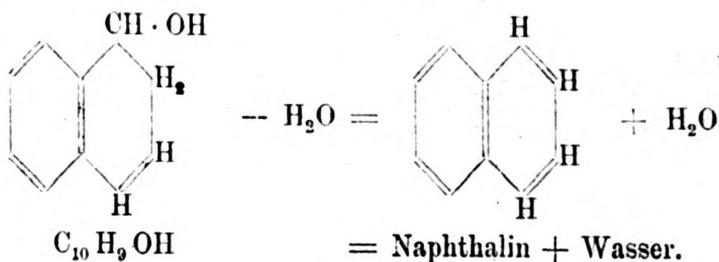


Das ac- α -Tetralol selbst zu fassen gelang nicht; zur Erklärung hierfür dürfen wir nachfolgende Erfahrung heranziehen.

Da in allen Fällen, wo wir Tetralol erwartet haben, im Destillat die oben beschriebene Dihydronaphthalinreaktion mit Kalilauge eingetreten ist (z. B. beim Kochen reiner Tetralin-glykuronsäure mit Wasser bei saurer Reaktion), so ist es nahe-liegend, anzunehmen, dass sich in diesen Fällen das Tetralol unter Wasserabspaltung in Dihydronaphthalin umgewandelt hat:



Ganz analog ist die weiterhin gemachte Erfahrung, daß nach Verfütterung von Dihydronaphthalin an Kaninchen ausgeschiedene Dihydronaphtholglykuronsäure beim Stehen in saurer Lösung massenhaft Naphthalin liefert:



Über die wirkliche Stellung des Hydroxyl sei hierbei nichts ausgesagt.

Wir vermuten, daß es bei den Schröter-Thomasschen Versuchen durch tagelanges Verweilen der Tetralylglykuronsäure in dem stark phosphorsauren Harn zur Spaltung und passiven Bildung des gepaarten Harnstoffs gekommen ist.

Das ar- α -Tetralol läßt sich künstlich, unter gleichen Bedingungen wie oben die gepaarte Glykuronsäure, nicht in einen gepaarten Harnstoff überführen, noch weniger Tetralin selbst.

Der mit Säure gekochte Tetralinharn gibt ein Destillat, dessen erste Anteile nach Trennung vom Naphthalin keine Kalireaktion aufweist, während die weiteren Teile diese Reaktion intensiv geben: es gehen also allmählich Zersetzungsprodukte der Tetralinglykuronsäure über.

Aus den alkoholischen Mutterlaugen der Darstellung des 286°-Körpers läßt sich durch Destillation ein anfangs farbloses, später schwach gelbes, dickflüssiges Öl gewinnen, das stickstofffrei ist, in Eiswasser zu Kristallen erstarrte, Schmelzpunkt 8° C., Siedepunkt 214° C., hatte. Analyse:

Substanz = 0,1387, CO ₂ = 0,4589, H ₂ O = 0,1090		
Substanz = 0,1207, CO ₂ = 0,4002, H ₂ O = 0,0972		
	% C	% H
Berechnet für Tetralin C ₁₀ H ₁₂	90,91	9,09
Gefunden: I.	90,23	8,79
II.	90,43	9,01.

Es liegt somit ein Kohlenwasserstoff vor, der trotz der dem Tetralin nahestehenden Analysenwerte wegen der Differenz der physikalischen Konstanten nicht Tetralin sein kann. Tetralin schmilzt bei -30° C, siedet bei 208° C. Auch läßt sich nicht sicher ausschließen, daß dieser Körper erst aus einer andersartigen Vortufe beim tagelangen Stehen entstanden ist.

III. Tetralinversuche am Menschen. -- Dihydro-naphthalin.

Ganz anders als Vorstehendes verlief die Untersuchung des Harns von Menschen, die Tetralin (je 5 oder 7 g pro die) per os genommen. Die Harne waren inaktiv, dunkelgrün.

Beim Einengen bei nativer Reaktion, oder bei saurer Reaktion fällt ein amorphes Pigment aus, das in konz. KOH löslich, mit Säuren wieder ausfällbar, löslich in Alkohol ist. Da das Pigment nicht kristallisierte, haben wir von seiner weiteren Untersuchung Abstand genommen. Das Pigment ist mit Kohle völlig absorbierbar, nicht mit Talcum.

Die Menschenharnen gaben außerdem folgende Farbreaktion: versetzt man einige Kubikzentimeter mit einigen Tropfen Ferricyankaliumlösung, so tritt eine intensive, an Berlinerblau erinnernde Färbung ein; dieselbe Verfärbung tritt auch mit chromsaurem Kali und verdünnter Schwefelsäure in der Kälte ein, es handelt sich somit um eine durch Oxydation farbig werdende Leukoverbindung.

Destilliert man bei saurer Reaktion, so gibt das erste Destillat keine KOH-Reaktion — kein Dihydronaphthalin —, später deutliche positive Kalireaktion, der Rückstand die Ferricyankaliumreaktion in unveränderter Stärke.

Eine Harnprobe — vom 2. Tag nach $7\frac{1}{2}$ g Tetralin — gab schon mit Essigsäure allein versetzt starke Blaufärbung. Gepaarte Glykuronsäure vermochten wir aus dem Harn nicht rein darzustellen, wohl aber gelang der Nachweis von Naphthalin im Destillat des angesäuerten Harns: deutliche Kristalle, die abgepreßt sublimiert, mit reinem Naphthalin gemengt, Mischschmelzpunkt von $76-77^{\circ}$ C. zeigten.

Noch anders waren die Verhältnisse bei Verfütterung von Dihydronaphthalin an Kaninchen. Reinstes Dihydronaphthalin $C_{10}H_{10}$, Siedepunkt = 85° C., Schmelzpunkt = -8° C., $21,5 = 0,9963$ verdanken wir der Güte des Herrn Prof. von Braun. Die leicht grün gefärbten Harnen gaben bei nativer Reaktion destilliert im Destillat Kristallblättchen, die ihrem Schmelzpunkt und Geruch nach als Naphthalin anzusprechen sind. Die Harnen, die $-0,65^{\circ}$ C. im Dezimeterrohr drehten, gaben in der Kälte mit verdünnter H_2SO_4 versetzt eine dichte mikrokristallinische Fällung; dieselbe neutral gewaschen, abgepreßt, nach Naphthalin riechend, sublimiert, löst sich beim Anwärmen; im Destillat Blättchen vom Schmelzpunkt 81° C. Somit sicher Naphthalin. Sie enthalten also eine Glykuronsäure, die

schon in der Kälte spaltbar ist. An dieser Spaltbarkeit in saurer Lösung scheiterte die Reindarstellung der Dihydronaphthalinglykuronsäure aus dem Harn, da die Essigsäure der Bleiazetat-Fällung schon völlig zersetzend wirkte.

Das saure Filtrat des Harns, der nativ nicht reduzierte, reduziert jetzt kräftig. Es ist Glykuronsäure in der Kälte abgespalten worden.

Destilliert man das saure Filtrat des Harns, so bekommt man ein Öltröpfchen enthaltendes Destillat, das gleich einer Dihydronaphthalinsuspension, mit alkoholischer Kalilauge kräftige violette Färbung gibt. Es reduziert Silbernitrat direkt, ohne Alkalizusatz, zeigt eine schwache Brom- und deutliche Diazo-reaktion. Es handelt sich wohl gewiß um Dihydronaphthalin oder sein entsprechendes Hydroxylderivat. Aufgefallen ist uns, daß die Harndestillate niemals α -Naphtholreaktion gaben, obwohl Naphthalin gefunden wurde, das nach Nencki in Naphtholglykuronsäure übergeht (von der Richtigkeit letzterer Angabe haben wir uns durch einen eigenen Versuch überzeugt). Es spricht auch dies dafür, daß das Naphthalin erst außerhalb des Organismus, sekundär entstanden ist.

Eine Tetralincarbonsäure, die zu untersuchen wir Gelegenheit hatten, geht unverändert durch den Organismus.

Zusammengefaßt lauten unsere Erfahrungen:

Das Tetrahydronaphthalin (Tetralin) wird vom tierischen Organismus vorwiegend als ac - α -Tetrolylglykuronsäure, ein kleiner Teil unverändert durch die Atmung, ausgeschieden.

Beim Menschen entsteht ein Pigment, sodann eine durch oxydierende Agentien nachweisbare Leukoverbindung, ferner Dihydronaphthalin und Naphthalin.

Das Dihydronaphthalin wird ebenfalls vorwiegend als gepaarte Glykuronsäure ausgeschieden, die aufs leichteste Naphthalin abspaltet.

Die bei Verarbeitung der Harne gefundenen Körper, Tetrahydronaphthalinharnstoff und der 286°-Körper sind passiv entstandene, sekundäre Umwandlungsprodukte.

Breslau, 8. November 1918.