

449. H. Thoms: Über die Konstitution des Xanthotoxins und seine Beziehungen zum Bergapten.

[Aus dem Pharmazeutischen Institut der Universität Berlin.]

(Eingegangen am 13. November 1911.)

Das Pharmazeutische Institut der Universität Berlin erhielt vor einigen Jahren aus Togo zwecks pharmako-chemischer Untersuchung eine Droge, welche als Wurzelrinde von *Fagara xanthoxyloides* Lam., Rutaceen, bezeichnet war.

Nach brieflicher Mitteilung des Hrn. Regierungsrats Dr. med. Kersting findet im Hinterlande von Togo bei den dortigen Negeren diese Wurzelrinde als Arzneimittel eine häufige Verwendung. Zubereitungen aus der Droge werden sowohl zum Abtreiben der menschlichen Leibesfrucht als auch »zum Reinigen der weiblichen Geschlechtsorgane nach Geburten« benutzt.

Auf Ansuchen übermittelte uns Hr. Regierungsrat Dr. Kersting auch andere Organteile der Pflanze, so die Blätter und Früchte, die dem Institut durch das Kaiserliche Gouvernement in Togo überwiesen wurden.

Mein Schüler Hans Prieß hat nun unter meiner Leitung zunächst das aus den Früchten der *Fagara xanthoxyloides* durch Destillation mit Wasserdämpfen im Pharmazeutischen Institut dargestellte ätherische Öl untersucht und über die Ergebnisse dieser Arbeit unlängst berichtet¹⁾.

Wir ermittelten in dem ätherischen Öl die Anwesenheit von Dipenten, Methyl-*n*-nonyl-*keton*, Caprinsäure, Essigsäure in veresterter Form, Linalool, einem Sesquiterpen und einem gut krystallisierbaren neuen Stoff. In größerer Menge war dieser noch von den der Dampfdestillation bereits unterworfen gewesenen Fruchtschalen zurückgehalten worden und konnte daraus durch Alkohol-extraktion gewonnen werden. Der Stoff besitzt die empirische Zusammensetzung $C_{12}H_{18}O_4$, krystallisiert in Prismen und schmilzt bei 145—146°. Er ist in absolutem Alkohol löslich; als bestes Umkrystallisationsmittel erweist sich 80-proz. Alkohol. In Wasser, Äther, Petroläther löst sich der Stoff schwer, leichter in Aceton und Eisessig und läßt sich mit Wasserdämpfen, wenn auch schwer, verflüchtigen. Die Verbindung ist optisch inaktiv. Da sie ein starkes Fischgift darstellt, wie physiologische Versuche bewiesen, nannten wir sie Xanthotoxin.

¹⁾ Ber. d. Dtsch. Pharm. Ges. 21, 227 [1911].

Die Versuche zur Aufklärung der Konstitution führten zunächst zu dem Ergebnis, daß die Verbindung als ein Lacton anzusprechen sei. Xanthotoxin enthält eine Methoxyl-Gruppe und liefert ein gut krystallisierendes Nitro-Derivat. Es bildet sich unter Bestehenbleiben der Methoxyl-Gruppe. Auch ein krystallisierendes Brom-Derivat ließ sich erhalten.

In einer Fußnote zu der ersten Publikation über das Xanthotoxin sagte ich, seinem ganzen Verhalten nach scheine das Xanthotoxin zu der Gruppe der Cumarine zu gehören. Vielleicht liege in ihm gleichzeitig ein Derivat des Cumarins und des Cumarons vor, wie beim Bergapten, dem das Xanthotoxin isomer ist. Zur Aufklärung dieser Beziehungen stellte ich weitere Beiträge in Aussicht, wenn neues Drogenmaterial zur Gewinnung des Xanthotoxins beschafft sei.

Das Pharmazeutische Institut erhielt nun neuerdings aus Sokode in Togo 34 kg Früchte von *Fagara xanthoxyloides*. 30 kg der zerquetschten Früchte ergaben durch Wasserdampfdestillation 110 g = 0.37 % ätherisches Öl, welches die Zusammensetzung des früher untersuchten besaß. Die Aufbereitung der Destillationsrückstände geschah in etwas anderer Weise als früher. Sie wurden mit 80-proz. Alkohol ausgekocht, der alkoholische Auszug zu einem dicken Extrakt eingedampft, dieses mit absolutem Alkohol durchgeknetet, der Rückstand mittels Petroleumäthers völlig von fettem Öl befreit, dann nach dem Trocknen mit kaltem Wasser angerieben, wobei sich ein nur noch wenig gefärbter, krystallinischer Bodensatz abschied, und dieser aus 80-proz. Alkohol wiederholt umkrystallisiert.

Es wurden schließlich Krystalle erhalten, deren Schmelzpunkt gegen 128° lag, und welche unter dem Mikroskop als nicht einheitlich sich erwiesen. Nach außerordentlich mühevolem, häufig wiederholtem Umkrystallisieren konnten schließlich zwei Fraktionen herausgearbeitet werden, von denen die eine wohl ausgebildete, lange Prismen vom Schmp. 145—146° darbot, die andere verfilzte Krystallnadeln vom Schmp. 190—191°.

Erstere Form erwies sich identisch mit dem Xanthotoxin, letztere mit Bergapten, wie ein Vergleich mit aus Bergamottöl gewonnenem Bergapten ergab. Ein Gemisch beider Bergaptene zeigte keine Schmelzpunktsdepression. *

Aus der mit absolutem Alkohol hergestellten Lösung des Extraktes konnten noch ca. 30 g fast reines Xanthotoxin gewonnen werden.

Analysen der bei 145—146° schmelzenden Krystalle.

0.1431 g Sbst.: 0.3479 g CO₂, 0.0474 g H₂O. — 0.1454 g Sbst.: 0.3540 g CO₂, 0.0500 g H₂O.

$C_{12}H_8O_4$ (Xanthotoxin). Ber. C 66.65, H 3.74,
Gef. » 66.81, 66.39, » 3.71, 3.85.

Analyse der bei 190—191° schmelzenden Krystalle.

0.1598 g Subst.: 0.3892 g CO_2 , 0.0544 g H_2O .

$C_{12}H_8O_4$ (Bergapten). Ber. C 66.65, H 3.74.
Gef. » 66.42, » 3.81.

Auch das chemische Verhalten des bei 190—191° schmelzenden Körpers war völlig identisch mit demjenigen des Bergaptens, über welches von Pomeranz¹⁾ mehrere bemerkenswerte Arbeiten vorliegen. Pomeranz hat die Einwirkung von Brom auf das Bergapten studiert, ferner ein Nitro-bergapten, eine Nitro-bergaptensäure, eine Methyl-bergaptensäure und einen Methyl-bergaptensäure-methylester dargestellt. Der aus den Fagara-Früchten gewonnene, bei 190—191° schmelzende Stoff lieferte die gleichen Bergapten-Derivate. An der Identität der Bergaptene aus Fagara und Bergamottöl ist also nicht zu zweifeln.

Aus dem Xanthotoxin ließen sich den Bergapten-Derivaten isomere Verbindungen gewinnen, die sich durch die Schmelzpunkte und Löslichkeitsverhältnisse aber von jenen unterscheiden.

Nitro-xanthotoxin, $C_{12}H_7(NO_2)O_4$.

Über das Nitroxanthotoxin war bereits früher berichtet und seine Analyse mitgeteilt worden. Ich erhielt es neuerdings nach folgendem Verfahren:

Je 1 g Xanthotoxin wird mit 10 g Eisessig angeschlämmt, mit einer Lösung von 3 g 65-proz. Salpetersäure (1.4 p. s.) auf 10 g Eisessig versetzt und das Gemisch auf ca. 90° erhitzt. Es tritt lebhaft gelbe Färbung auf, und die Flüssigkeit erstarrt nach kurzem zu einem Krystallbrei. Er wird auf Eis ausgegossen und das Produkt aus Alkohol, worin es schwer löslich ist, oder besser aus Nitrobenzol umkrystallisiert.

0.1104 g Subst.: 0.2228 g CO_2 , 0.0266 g H_2O . — 0.1946 g Subst.: 9.8 ccm N (26.5°, 765 mm).

$C_{12}H_7(NO_2)O_4$. Ber. C 55.15, H 2.79, N 5.37.
Gef. » 55.04, » 2.70, » 5.58.

Das sowohl aus Alkohol, wie aus Nitrobenzol umkrystallisierte, lebhaft gelb gefärbte Nitro-xanthotoxin schmilzt bei 233°. Nitro-bergapten, nach gleichem Verfahren wie jenes dargestellt, färbt sich beim Erhitzen auf 230° dunkler und ist, ohne zu schmelzen, bei 260° schwarz. Ein Gemisch von Nitroxanthotoxin und Nitrobergapten beginnt bei 204° unter Braunfärbung und Zersetzung zu schmelzen.

¹⁾ M. 12, 379 [1891] und 14, 28 [1893].

Methyl-xanthotoxinsäure und Methyl-xanthotoxinsäure-methylester.

Analog der von Pomeranz¹⁾ angegebenen Darstellungsvorschrift für Methyl-bergaptensäure und Methyl-bergaptensäure-methylester wurden auch die entsprechenden Xanthotoxin-Derivate durch Behandeln von Xanthotoxin in methylalkoholischer Alkalilösung mit Methyljodid dargestellt.

Methyl-xanthotoxinsäure, $C_{12}H_{11}O_5 \cdot COOH$, wurde in derben Krystallen vom Schmp. 114—117° erhalten.

0.1474 g Sbst.: 0.3384 g CO_2 , 0.0630 g H_2O .

$C_{12}H_{11}O_5$. Ber. C 62.87, H 4.88.

Gef. » 62.61, » 4.80.

Methyl-xanthotoxinsäure-methylester, $C_{12}H_{11}O_5 \cdot COOCH_3$. Dieser wird aus der alkalischen Flüssigkeit mit Äther aufgenommen; der Abdampfrückstand der ätherischen Lösung läßt sich durch Behandeln mit Petroleumäther, worin unverändert gebliebenes Xanthotoxin kaum löslich ist, von diesem trennen, und beim Eindampfen der Petrolätherlösung bleibt der Methyl-xanthotoxinsäure-methylester als Sirup zurück, welcher nach längerer Aufbewahrung im Vakuum-exsiccator in schöne, große, farblose Krystalltafeln übergeht. Sie werden von dem flüssig gebliebenen Anteil mechanisch getrennt und mit Äther abgewaschen. Schmp. 44°.

0.1334 g Sbst.: 0.3113 g CO_2 , 0.0668 g H_2O .

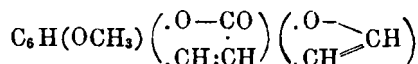
$C_{14}H_{14}O_5$. Ber. C 64.08, H 5.39.

Gef. » 63.64, » 5.61.

Der gefundene Kohlenstoffwert stimmt nicht sonderlich gut, wohl infolge der noch nicht völligen Reinheit des Esters.

Der isomere Methyl-bergaptensäure-methylester schmilzt bei 52°.

Das chemische Verhalten der beiden isomeren Verbindungen Xanthotoxin und Bergapten spricht dafür, daß die Verknüpfung der Atomgruppen im Molekül eine ähnliche ist, und daß, wie im Bergapten, so auch im Xanthotoxin ein Cumarin-Cumaron-Derivat vorliegt, welches sich in den Ausdruck



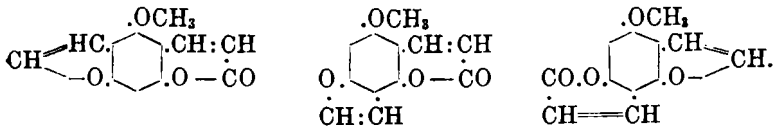
aflösen läßt.

Aus dem Verhalten des Bergaptens bei der Kalischmelze, wobei Pomeranz²⁾ Phloroglucin erhielt, hat er den Schluß gezogen, daß Bergapten ein Derivat des vom Phloroglucin sich ableitenden Di-

¹⁾ loc. cit.

²⁾ loc. cit.

oxycumarins sei und die Diskussion folgender Konstitutionsformeln zulasse:



Ich führte die Kalischmelze mit dem aus den Fagara-Früchten erhaltenen Bergapten etwas abweichend von Pomeranz aus: 2 g Kaliumhydroxyd werden in wenig Wasser gelöst, mit 2 g Bergapten bis zur Auflösung gekocht, dann noch 18 g Kaliumhydroxyd hinzugegeben und bis zum ruhigen Schmelzen erhitzt. Nachdem eine Probe der Schmelze in Wasser gelöst und ein Zusatz von verdünnter Schwefelsäure Bergaptensäure nicht mehr abscheidet, wird nach dem Erkalten die Schmelze in Wasser gelöst, die Lösung mit Äther ausgeschüttelt und nach dem Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure abermals mit Äther behandelt. Der Abdampfrückstand dieser letzteren ätherischen Lösung wird aus Wasser bei Gegenwart von Tierkohle umkrystallisiert und liefert so einen in nahezu farblosen Blättchen krystallisierenden Stoff, der einen süßen Geschmack besitzt, bei 208—209° schmilzt, mit Salzsäure angerieben einen Fichtenspan lebhaft rot färbt, in Alkohol gelöst und, mit Salzsäure und verdünnter Vanillin-Lösung versetzt, rote Färbung gibt, alles Reaktionen, welche für Phloroglucin charakteristisch sind. Die Angaben Pomeranz' werden hiermit also bestätigt.

Vollständig anders verhielt sich nun aber das Xanthotoxin bei der Kalischmelze. Als ich es in analoger Weise wie Bergapten mit Kaliumhydroxyd behandelte, erhielt ich ein Produkt, das mit Wasser eine tief dunkel gefärbte Lösung gab, aus welcher sich nach kurzem Stehen braune Flocken abschieden und charakterisierbare Stoffe anfangs nicht gewonnen werden konnten. Phloroglucin war nicht auffindbar. Nach mehreren fruchtlosen Vorversuchen erzielte ich schließlich brauchbare Resultate, als ich die Kalischmelze bei 205—210° ausführte. Ich verfuhr in der Weise, daß je 2 g Xanthotoxin mit 2 g Kaliumhydroxyd und wenig Wasser bis zur Lösung erhitzt und dann noch 18 g Kaliumhydroxyd hinzugegeben wurden. Die Schmelze beließ ich so lange bei der Temperatur von 205—210°, als noch Gasblasen sich entwickelten, löste dann in Wasser, säuerte mit verdünnter Schwefelsäure an und ätherte nach der Filtration 5- bis 6-mal aus. Den Abdampfrückstand der ätherischen Lösung nahm ich mit Wasser auf und dampfte nach der Filtration auf dem Wasserbade auf ein kleines Volumen ein. Nach dem Erkalten erstarrte das dunkelbraun gefärbte Extrakt zum Teil; die Krystalle wurden durch Aufstreichen auf Ton isoliert und unter Beihilfe von Kohle umkrystallisiert.

So ließ sich eine in farblosen, seideglänzenden Prismen kristallisierende Säure gewinnen, die beim Erhitzen nicht schmolz, aber unter Kohlendioxydabspaltung sich zersetzte. Die wäßrige Lösung der Säure reduziert ammoniakalische Silberlösung, wird durch Barytwasser gefällt und durch Ferrichlorid dunkel rotviolett gefärbt. Fügt man zu der Säure in konzentrierter Schwefelsäure eine sehr geringe Menge Salpetersäure, so färbt sich die Mischung schön rotviolett. Diese Reaktion gilt nach Kostanecki¹⁾ als charakteristisch für die hier vermutete

Pyrogallol-carbonsäure, $C_6H_2(OH)_3COOH$ [1.2.3.4].

Diese Säure wurde zuerst von Senhofer und Brunner²⁾ durch Erhitzen von Pyrogallol mit Ammoniumcarbonat auf 130°, von Kostanecki³⁾ beim Kochen von Pyrogallol mit Kaliumbicarbonat erhalten. Sie kristallisiert mit $\frac{1}{3}$ Mol, Wasser, wie Senhofer und Brunner fanden und Kostanecki bestätigte.

Die Analyse der von mir aus dem Xanthotoxin beim Schmelzen mit Kali erhaltenen Säure lieferte für Pyrogallol-carbonsäure stimmende Werte:

0.0918 g Sbst.: 0.1618 g CO_2 , 0.0316 g H_2O . — 0.1020 g Sbst.: 0.1780 g CO_2 , 0.0380 g H_2O .

$3[C_6H_2(OH)_3COOH] + H_2O$. Ber. C 47.73, H 3.82.
Gef. » 48.05, 47.59, » 3.85, 4.16.

Wird die aus dem Xanthotoxin durch die Kalischmelze erhaltene Säure schnell erhitzt und nach beendigter Kohlendioxyd-Abspaltung der Rückstand mit Wasser aufgenommen, so wird die so erhaltene Lösung durch Kalkwasser sogleich blauviolett — nach einigem Stehenlassen scheiden sich braune Flocken ab —, durch Ferrosulfatlösung indigoblau gefärbt; Silbernitrat- und Quecksilberoxydulsalz-Lösungen werden reduziert. Diese Reaktionen werden als Pyrogallol charakterisierend angegeben.

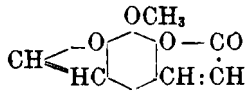
Es kann also keinem Zweifel unterliegen, daß die aus dem Xanthotoxin durch die Kalischmelze erhaltene Säure die bereits bekannte Pyrogallol-carbonsäure [1.2.3.4] ist. Aus je 2 g Xanthotoxin konnten je 0.2 g Rohprodukt an dieser gewonnen werden, das ist eine theoretische Ausbeute von ca. 12 %.

Will man nicht annehmen, was ja nicht unmöglich, aber doch wenig wahrscheinlich ist, daß bei der Kalischmelze Atomumlagerungen des Xanthotoxins eintraten, so wird man aus den vorstehen-

¹⁾ B. 18, 3205 [1885]. ²⁾ M. 1, 468 [1881]. ³⁾ loc. cit.

den Versuchen die Schlußfolgerung ziehen müssen, daß in dem Xanthotoxin ein Pyrogallol-Derivat verliegt.

Für das Xanthotoxin kann dann aber nur die eine Konstitutionsformel in Betracht kommen, welche durch den Ausdruck:



gekennzeichnet ist.

Bei der Ähnlichkeit des chemischen Aufbaues des Xanthotoxins und des Bergaptens lag die Vermutung nahe, daß beide eine ähnliche physiologische Wirkung zeigen würden. Die auf meinen Wunsch von Hrn. Privatdozenten Regierungsrat Dr. Rost in Berlin mit den beiden Substanzen vergleichend vorgenommenen Versuche bestätigen bis zu einem gewissen Grade diese Annahme.

Hr. Dr. Rost, dem ich für seine Bemühungen in dieser Sache meinen besten Dank ausspreche, teilt mir das Folgende mit:

Pharmakologische Wirkung des Xanthotoxins und Bergaptens.

Die pharmakologische Untersuchung stößt insofern auf Schwierigkeiten, als die Stoffe sich nur sehr wenig lösen. Die Untersuchung derselben beschränkte sich daher auf Fische (Stichlinge). Durchweg wurden benutzt: 2 l Leitungswasser, 0.1 g Substanz, 6 Stichlinge.

Ein Vorversuch mit 0.1 g Bergapten (aus Fagara), die in 2 l Wasser verrührt wurden, zeigte, daß innerhalb 50 Minuten keinerlei Wirkung eintrat. Es mußte deshalb dazu gegriffen werden, Alkohol als Lösungsmittel zu verwenden. Obwohl die meisten Versuche nur mit 10 ccm absolutem Alkohol angestellt wurden, wurde doch ein Kontrollversuch mit 2 l Wasser, 25 ccm Alkohol, 6 Stichlingen ausgeführt. Wie bereits bekannt, ist diese Alkoholkonzentration nur ganz schwach narkotisch. 2 Tiere zeigten leichte Gleichgewichts-Störungen; kein Tier starb, obwohl die Fische auch über Nacht in der Alkohollösung verblieben.

0.1 g Xanthotoxin wurden mit 10 ccm heißem Alkohol in Lösung gebracht und diese in 2 l Wasser geschüttet. Es zeigte sich keine Ausscheidung. Bei den Fischen wurde eine intensive zentrale Betäubung bemerkbar. Die Betäubung beschränkt sich nicht nur auf das Großhirn (Narkose), sondern griff schnell auch auf die tieferen Abschnitte des Zentralnervensystems über (totale Lähmung, Tod). Die Narkose mit Schlaferscheinungen, Erholungsfähigkeit bei der Überführung in frisches Wasser, war ausgeprägt. In allen Versuchen nahm die Wirkung ansteigend zu.

Nicht so bei den beiden Bergaptenen, was wohl damit zusammenhängt, daß die Stoffe sich allmählich im Wasser ausscheiden. Irgendwelche kon-

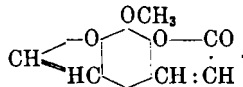
stanten Versuchsbedingungen ließen sich nicht erzielen. Die Angaben haben daher kaum quantitativen Wert.

Auch die Bergaptene zeigen zentralnarkotische Wirkung, beide gleich. Ob gewisse krampfähnliche Bewegungen, Schwimmstöße, durch Reizung etwa des Mittelhirns veranlaßt sind, oder auf allmähliche Erholung infolge Abnahme der Konzentration der Lösung zurückzuführen sind, läßt sich nicht sicher entscheiden. Jedenfalls ist das Bergapten nicht extrem giftig; als Grundwirkung ist die zentralbetäubende (narkotische) zu nennen; hervorstechende sonstige pharmakologische Wirkungen (etwa ausgesprochene pikrotoxinartige Wirkungen) fehlen. Zwei große Frösche (Temp. und Esculenta), denen je 0.1 g Bergapten in Gummilösung in den Bauchlymphsack eingespritzt wurden, zeigten innerhalb einer Stunde keinerlei Wirkung.

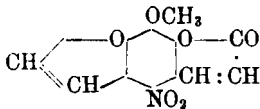
Ergebnisse der Arbeit.

1. In den Fruchtschalen der Rutaceae *Fagara xanthoxyloides* Lam. finden sich die beiden isomeren Cumarin-Cumaron-Derivate Xanthotoxin und Bergapten, $C_{12}H_8O_4$. Ersteres leitet sich vom Pyrogallol, letzteres vom Phloroglucin ab.

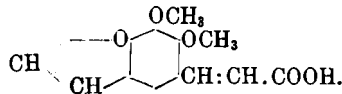
2. Für das Xanthotoxin wird die folgende Konstitutionsformel aufgestellt:



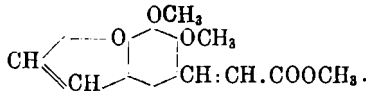
Die von dem Xanthotoxin dargestellten Derivate lassen sich hiernach durch die folgenden Konstitutionsformeln ausdrücken:



Nitro-xanthotoxin



Methyl-xanthotoxinsäure



Methyl-xanthotoxin-methylester.

3. Xanthotoxin und Bergapten sind Fischgifte, von denen das erstere eine stärkere Wirkung äußert, als das letztere.

4. Das gleichzeitige Vorkommen von Xanthotoxin und Bergapten in den Früchten von *Fagara xanthoxyloides* erscheint in pflanzenentwicklungsgeschichtlicher Beziehung bedeutungsvoll, denn diese chemischen Befunde bieten eine Stütze dar für die von Botanikern angenommenen verwandtschaftlichen Zusammenhänge der Rutoideae und Aurantioideae. Ich werde Gelegenheit nehmen, mich demnächst an anderer Stelle eingehender darüber auszusprechen.