

83. Das Schicksal der Decahydro-naphtylessigsäuren und der Naphtylessigsäuren im Tierkörper

von Karl Bernhard und H. Caflisch-Weill.

(Z. XII. 48.)

Untersuchungen über das Verhalten körperfremder Substanzen — ein Begriff, der mit Vorsicht zu gebrauchen ist, nachdem von zahlreichen Verbindungen, die man früher in dieser Weise bezeichnete, physiologisch bedeutsame Wirkungen ausgehen — vermögen uns vielfach wertvolle Hinweise bezüglich des Verlaufes normaler Stoffwechselforgänge zu vermitteln und fermentative Leistungen aufzuzeigen, die anderweitig nicht leicht erkennbar würden. Hierbei kommt der Aromatisierung alicyclischer Verbindungen im Tierkörper eine besondere Bedeutung zu, da analoge Vorgänge bei der Entstehung bestimmter Hormone und vielleicht cancerogener Substanzen aus Sterinen oder Gallensäuren anzunehmen sind.

Wir haben in früheren Untersuchungen Dehydrierungen ringförmiger Verbindungen im Tierkörper verfolgt und die Aromatisierung des Cyclohexanringes durch Verabreichung von Hexahydrobenzoesäure an Kaninchen, Hunde und Menschen nachgewiesen¹⁾ Kürzlich hat *F. Dickens*²⁾ unsere Befunde bestätigt und die Entstehung von Benzoesäure aus Hexahydrobenzoesäure in Leberschnitten und Leberhomogenat von Kaninchen gezeigt.

Auch N-Methyl-hexahydro-benzamid, N,N-Dimethyl-hexahydrobenzamid und Hexahydro-hippursäure gehen in Benzoesäure über, während Hexahydro-benzoyl-sarkosin und Hexahydro-benzoyl-alanin nach subcutaner Injektion im Harn ausgeschieden werden. ω -Cyclohexyl-substituierte Fettsäuren mit ungerader C-Zahl der Seitenkette geben gleichfalls Benzoesäure³⁾. Hexahydro-m-toluylsäure wird zu m-Toluylsäure dehydriert, Hexahydro-o-toluylsäure hingegen wieder unverändert ausgeschieden und Hexahydro-p-toluylsäure weitgehend abgebaut, wobei indessen auch partiell dehydrierte Säuren im Harn erscheinen⁴⁾. 1,2,3,4-Tetrahydro-chinolin wird vom Hund zu 2-Oxychinolin oxydiert, 1,2,3,4-Tetrahydro-iso-chinolin bis auf eine kleine

¹⁾ *K. Bernhard*, Z. physiol. Ch. **248**, 256 (1937); *K. Bernhard* und *H. Caflisch-Weill*, Helv. **28**, 1697 (1945).

²⁾ *F. Dickens*, Nature **159**, 839 (1947).

³⁾ *K. Bernhard*, Z. physiol. Ch. **256**, 49 (1938).

⁴⁾ *K. Bernhard*, Z. physiol. Ch. **256**, 59 (1938).

Menge, die im Harn auftritt, abgebaut. Dasselbe gilt für Decahydrochinolin, -iso-chinolin und Decahydrochinaldin¹⁾.

In Fortsetzung unserer Versuche über das Schicksal hydrierter Naphtalinderivate²⁾ haben wir die Decahydro- α -naphtylessigsäure mit einem Futter bestehend aus Reis und wenig Fleisch einem Hund in täglichen Mengen von 1,5 g (pro kg/die 113 mg) während 7 Tagen verabreicht. Störungen traten nicht ein; aus der während 10 Tagen gesammelten Harnmenge vermochten wir weder die verfütterte Säure noch Abbau- oder Paarungsprodukte derselben zu isolieren.

Auch die Decahydro- β -naphtylessigsäure, demselben Hund in analoger Weise verfüttert (pro kg/die 114 mg), liess sich im Harn der 10-tägigen Versuchsperiode nicht auffinden. Der Nachweis von Abbau- oder Paarungsprodukten gelang nicht.

Nach Gaben von 10,5 g α -Naphtylessigsäure (pro kg/die 120 mg) an den gleichen Hund isolierten wir aus dem Harn 5,611 g α -Naphtacetyl-glycin, das nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Wasser bei 153–154° schmolz. Durch Hydrolyse in schwefelsaurer, wässriger Lösung bildete sich α -Naphtylessigsäure. Von der verfütterten Menge lagen somit 40,9% mit Glykokoll gepaart im Harn vor, der restliche Anteil wurde wohl abgebaut, denn er war darin nicht enthalten. Ein mit Kartoffeln und Heu gefüttertes Kaninchen erhielt 160 mg pro kg/die, total 4,0 g Naphtylessigsäure. Die Aufarbeitung des Harnes ergab indessen hier nur sehr merkliche Mengen Hippursäure und Benzoesäure. Zu einem analogen Ergebnis führte die Verabreichung an Ratten.

Wurden einem anderen Hund 3 g α -Naphtacetyl-glycin per os gegeben (pro kg/die 49 mg), so erschienen davon 1,261 g oder 42,1% im Harn, wobei dieser keine α -Naphtylessigsäure enthielt.

Von der β -Naphtylessigsäure bekam der erste Hund 140 mg pro kg/die unter den nämlichen Bedingungen. Er schied mit dem Harn 4,797 g oder 45,7% der verabreichten Menge wieder aus. Eine Paarung mit Glykokoll oder Glucuronsäure war nicht nachweisbar. Aus dem Harn eines Kaninchens, dem per os 156 mg pro kg/die oder insgesamt 3,0 g α -Naphtylessigsäure gegeben wurden, vermochten wir lediglich, wie nach Fütterung der α -Säure, Hippursäure und Benzoesäure zu isolieren.

Experimentelles.

Die α -Naphtylessigsäure³⁾ schmolz nach Umkrystallisieren aus wässrigem Alkohol bei 132–133°.

4,345 mg Subst. gaben 12,31 mg CO₂ und 2,20 mg H₂O

C₁₂H₁₀O₂ (186,08) Ber. C 77,39 H 5,41% Gef. C 77,27 H 5,64%

¹⁾ K. Bernhard, Z. physiol. Ch. **258**, 96 (1939).

²⁾ K. Bernhard, Z. physiol. Ch. **257**, 54 (1938).

³⁾ Die beiden Verbindungen wurden uns von der Firma J. R. Geigy & Co. in verdankenswerter Weise überlassen.

Die β -Naphtylelessigsäure, zweimal aus 75-proz. Äthanol umkrystallisiert, zeigte einen Smp. von 141°.

4,243 mg Subst. gaben 12,06 mg CO₂ und 2,09 mg H₂O

2,830 mg Subst. verbrauchten 1,51 cm³ 0,001-n. NaOH

Gef. C 77,52 H 5,51% Äq.-Gew. 187,4

Die α - und die β -Decahydro-naphtylelessigsäure gewannen wir durch Hydrierung der beiden erwähnten, in Eisessig gelösten Säuren mit Wasserstoff unter Verwendung von PtO₂ als Katalysator. Die Decahydro- α -naphtylelessigsäure schmolz aus wässrigem Alkohol umkrystallisiert bei 99°.

3,518 mg Subst. gaben 9,45 mg CO₂ und 3,17 mg H₂O

C₁₂H₂₀O₂ (196,16) Ber. C 73,41 H 10,28% Gef. C 73,26 H 10,08%

Die Decahydro- β -naphtylelessigsäure wies aus Eisessig mehrmals umkrystallisiert einen Smp. von 108° auf.

3,766 mg Subst. gaben 10,10 mg CO₂ und 3,49 mg H₂O

Gef. C 73,15 H 10,36%

α -Naphtacetoyl-glycin stellten wir durch Eintragen des Säurechlorids der α -Naphtylelessigsäure in eine Lösung von Glykokoll in 3-n. Natriumcarbonat her¹⁾. Smp. 148–151°.

3,918 mg Subst. gaben 9,97 mg CO₂ und 1,92 mg H₂O

3,658 mg Subst. gaben 0,187 cm³ N₂ (21°, 731 mm)

C₁₄H₁₃O₃N Ber. C 69,13 H 5,35 N 5,76%

Gef. „ 69,39 „ 5,48 „ 5,70%

Fütterungsversuche.

A) Hund: Ein etwa 10 Jahre altes weibliches Tier erhielt in entsprechenden Abständen von der α - und β -Decahydro-naphtylelessigsäure und der α - und β -Naphtylelessigsäure, in täglichen Dosen von 1,5 g, je 10,5 g, neutralisiert mit Natronlauge, einem Futter aus 150–200 g Reis und 50 g Fleisch beigemischt. Störungen wurden nie beobachtet. Die während den 10-tägigen Versuchsperioden gesammelten Harnmengen betragen 5,39, 6,31, 5,33 und 6,17 Liter.

Einem 20,5 kg schweren jüngeren, männlichen Hund verfütterten wir an drei Tagen je 1,0 g α -Naphtacetoyl-glycin. Harnmenge von 4 Tagen 4,44 Liter.

B) Kaninchen: Einem 3,1 kg schweren Kaninchen gaben wir mit der Schlundsonde täglich 0,5 g α -Naphtylelessigsäure als Natriumsalz. Ein anderes Tier von 3,2 kg Gewicht erhielt pro Tag 0,5 g β -Naphtylelessigsäure. Die Harnmengen betragen 2,50 und 1,70 Liter.

C) Ratten: Eine Ratte im Gewicht von 239 g nahm an 7 Tagen je 0,20, total 1,4 g α -Naphtylelessigsäure, einer Normaldiät zugefügt, auf.

Harnaufarbeitung.

Die Harnen filtrierten wir über Kieselgur, fügten bis zu deutlich kongosaurer Reaktion Salzsäure zu und extrahierten auf einer Schüttelmaschine mehrmals mit Äther. Die ätherischen Extrakte wurden mit Wasser gewaschen und eingedampft. Darauf haben wir den Harn abgestumpft und im Vakuum auf ein kleines Volumen eingeeengt. Er wurde anschliessend erneut erschöpfend mit Äther ausgeschüttelt. In einigen Fällen schloss sich eine Extraktion des Harnkonzentrates mit Essigester an.

Decahydro- α -naphtylelessigsäure und Decahydro- β -naphtylelessigsäure: Die aus den ätherischen Auszügen erhaltenen, dunklen Schmierer wurden in verschiedenen Lösungsmitteln aufgenommen, ohne dass ausser Hippur- und Benzoesäure kristalline Anteile erhalten werden konnten. 2,041 g des braunen, schmierigen Rückstandes nahmen wir in 100 cm³ 98-proz. Alkohol auf und liessen diese Lösung innerhalb von

¹⁾ F. Hoffmann-La Roche & Co. AG., C. 1939 II, 3872; C. 1940 I, 2239.

24 Stunden durch eine 20 cm hohe Säule von 10 g Al_2O_3 fließen. Das deutlich heller gefärbte Filtrat gossen wir auf eine zweite Säule (20 g Al_2O_3) von 40 cm Länge. Eine wesentliche Veränderung trat nicht mehr ein; eingedunstet verblieben 170 mg nicht kristallisierender Rückstand. Beide Säulen wurden nachher mit Petroläther ausgewaschen. Dieser hinterliess 242 und 146 mg Rückstand. Durch Eluierung mit Eisessig erhielten wir braune Rückstände, aus denen nach Aufnahme in organischen Lösungsmitteln ausser Benzoe- und Hippursäure keine identifizierbaren Anteile gewonnen wurden.

α -Naphthylessigsäure: Aus den ätherischen Extrakten erhielten wir in 7 Fraktionen total 5,611 g bei 144–151° schmelzender Krystalle. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus heissem Wasser betrug der Smp. 153–154°.

3,393 mg Subst. gaben 8,16 mg CO_2 und 1,57 mg H_2O

3,659 mg Subst. gaben 0,196 cm^3 N_2 (17°, 728 mm)

$\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{O}_3\text{N}$ Ber. C 69,13 H 5,35 N 5,76%

Gef. „ 69,20 „ 5,18 „ 5,96%

Eine Probe von Naphtacetyl-glykokoll wurde während 2 Stunden mit 20-proz. Schwefelsäure am Rückflusskühler erhitzt. Nach Verdünnen mit Wasser und Abkühlen bildeten sich weisse Krystalle, die abgenutscht und zweimal aus heissem Wasser umkrystallisiert wurden. Smp. 132°, Misch-Smp. mit α -Naphthylessigsäure 132–133°.

3,220 mg Subst. gaben 9,16 mg CO_2 und 1,59 mg H_2O

Gef. C 77,57 H 5,52%

β -Naphthylessigsäure: Wir erhielten 3,896, 0,677, 0,096 und 0,128 g Krystalle mit Schmelzpunkten von 128–131, 128–130, 127–130 und 127–128°. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren der vereinigten Fraktionen aus 75-proz. Äthanol unter Verwendung von Kohle stieg der Smp. auf 141°.

3,601 mg Subst. gaben 10,25 mg CO_2 und 1,81 mg H_2O

3,682 mg Subst. verbrauchten 1,96 cm^3 0,01-n. NaOH

Gef. C 77,63 H 5,62% Äq.-Gew. 187,8

Aus dem Essigester-Auszug des Harnkonzentrates erhielten wir 0,371 g braunen, nicht krystallisierten, schmierigen Rückstand.

α -Naphtacetyl-glycin: Aus dem Harn ergaben sich durch ätherische Extraktion 0,816 und 0,345 g Krystalle mit Smp. von 127–133 und 105–138°. Smp. nach wiederholtem Umkrystallisieren aus wässrigem Alkohol 146–147°.

4,220 mg Subst. gaben 10,69 mg CO_2 und 2,08 mg H_2O

4,191 mg Subst. gaben 0,207 cm^3 N_2 (20°, 726 mm)

Gef. C 69,09 H 5,51 N 5,49%

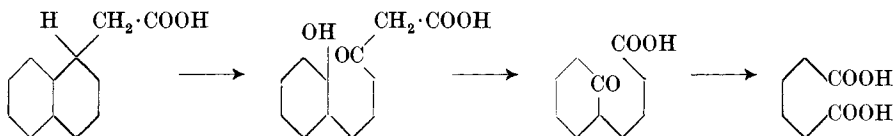
Diskussion der Ergebnisse.

Decahydro- α -naphtyl- und Decahydro- β -naphthylessigsäure werden im Gegensatz zur Decahydro- α -naphthoesäure und Decahydro- β -naphthoesäure im tierischen Organismus (Hund) offenbar weitgehend abgebaut. Die letzteren beiden Verbindungen fanden wir nach subcutaner Injektion an Hunden im Harn zu 49,7 bzw. 16,6% (β -Säure) wieder auf. Tetrahydro-(1,2,3,4)-naphthalin-carbonsäure-(1)¹⁾ konnte zu 38,4% aus dem Harn erhalten werden, die Tetrahydro- β -naphthoesäure hingegen nicht mehr. Offenbar begünstigt die COOH-Gruppe in β -Stellung den Abbau. Die Verlängerung der Seitenkette wirkt sich, wie aus dem Verhalten der Decahydro-naphthylessigsäuren hervorgeht, gleichfalls in diesem Sinne aus. Auch Cyclohexyl-essigsäure,

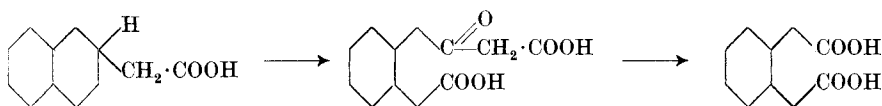
1) K. Bernhard, Z. physiol. Ch. 257, 54 (1938).

-buttersäure und -decansäure werden weitgehend oder völlig abgebaut¹⁾; nach Injektion der Cyclohexyl-essigsäure fanden wir etwa 3% unverändert im Harn vor, daneben aber Bernsteinsäure, die als Abbauprodukt der verabreichten Verbindung über β -Ketokorksäure und Adipinsäure aufgefasst werden kann.

Für die beiden Decahydro-naphtylessigsäuren wäre die Hexahydro-o-phtalsäure als Zwischenprodukt nach oxydativer Ringspaltung und β -oxydativem Abbau denkbar; wir haben indessen früher festgestellt, dass diese Verbindung nach Gaben von 93 mg pro kg/die vom Hund zu 69% im Harn wieder ausgeschieden wird²⁾. Ihre Bildung ist daher wenig wahrscheinlich; es sei denn, Hexahydro-o-phtalsäure werde als intermediär entstehendes Stoffwechselprodukt leichter abgebaut, als nach Verfütterung. Die Decahydro- α -naphtylessigsäure könnte vielleicht Adipinsäure bilden, womit der Anschluss an einen geläufigen Abbaueweg (Bernsteinsäure \rightarrow Fumarsäure) gegeben wäre:



Für die Decahydro- β -naphtylessigsäure bestünde die Möglichkeit des Abbaues zu o-Cyclohexyl-diessigsäure, deren Schicksal im Tierkörper nicht bekannt ist:



Jedenfalls ergibt sich, dass die Decahydro-naphtylessigsäuren gegenüber der α - und β -Naphtylessigsäure ein grundsätzlich verschiedenes Verhalten im Stoffwechsel des Hundes zeigen.

*Cohn*³⁾ beobachtete, dass α -Naphtoesäure von Kaninchen unverändert, von Hunden teilweise mit Glykokoll gepaart als Naphtursäure ausgeschieden wird. Kaninchen vermochten hingegen die β -Säure in ein Paarungsprodukt mit Glykokoll umzuwandeln, der Hund jedoch nicht. Nach *Quick*⁴⁾ soll der Hund α -Naphtoesäure in α -Naphtoyl-glucuronid überführen, eine Verbindung, die indessen nicht isoliert wurde. *Kikkaji*⁵⁾ untersuchte im Hinblick auf eine mögliche Ringspaltung das Schicksal des α - und β -Naphtalanins und fand nach Gaben der α -Verbindung ein nicht identifiziertes N-haltiges

¹⁾ *K. Bernhard*, Z. physiol. Ch. **256**, 49 (1938).

²⁾ *K. Bernhard*, Z. physiol. Ch. **256**, 59 (1938).

³⁾ *R. Cohn*, Z. physiol. Ch. **18**, 112 (1894).

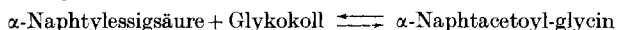
⁴⁾ *A. J. Quick*, J. Biol. Chem. **96**, 83 (1932).

⁵⁾ *T. Kikkaji*, Bioch. Z. **35**, 57 (1911).

Naphtalinderivat. Nach Fütterung von β -Naphtalanin konnte neben Hippursäure β -Naphtylessigsäure isoliert werden, desgleichen nach Gaben von β -Naphtyl-brenztraubensäure. Auf Grund der gegenüber der Norm erhöhten Hippursäuremengen wurde eine Spaltung des Naphtalinkerns für bewiesen erachtet. *Friedmann* und *Türk*¹⁾ beobachteten sowohl nach subcutaner als peroraler Applikation von β -Naphtoesäure im Hundeharn neben dem Ausgangsmaterial β -Naphtursäure. Nach subcutaner Injektion von 3,2 g β -Naphtylessigsäure schied der Hund 1,45 g oder rund 45% wieder aus. Bei einem anderen Tier konnten nach zweimaligen Gaben von je 2 g β -Naphtylessigsäure aus dem Harn nur 270 mg zurückerhalten werden. β -Naphtyl-brenztraubensäure lieferte nach Injektion oder Fütterung 8,8 bzw. 12,4% β -Naphtylessigsäure. Naphtylessigsäure und Naphtylessigsäureamid sind pflanzliche Wachstumsstoffe²⁾.

Während demnach im Stoffwechsel des Hundes sowohl die α - wie die β -Naphtoesäure mit Glykokoll gepaart werden, erfährt von den Naphtylessigsäuren nur die α -Verbindung eine solche Veränderung. Die gegenüber den Naphtoesäuren verlängerte Seitenkette der β -Naphtylessigsäure wirkt offenbar hemmend für das die Säureamid-Bindung katalysierende Ferment.

Fütterung des α -Naphtacetyl-glycins bewirkt kein Auftreten von α -Naphtylessigsäure im Harn; das Gleichgewicht der Reaktion



neigt offenbar nach der Seite des Säureamids. Nach *Quick*³⁾ soll Hundem injiziertes Benzoyl-glucuronat in Hippursäure und injizierte Hippursäure in Benzoyl-glucuronat übergehen. Wir erwähnten bereits, dass Hexahydro-hippursäure Benzoesäure bildet; aus Cyclohexyl-propionsäure im Tierkörper intermediär entstehende Hexahydro-benzoesäure wird nicht nur zu Benzoesäure dehydriert, sondern in geringem Ausmasse auch zu Hexahydro-hippursäure gepaart.

Von den Paarungsreaktionen, die zur Entstehung von Säureamidbindungen führen, ist namentlich die Hippursäuresynthese in den letzten Jahren vielfach untersucht worden. Nach *Borsook* und *Dubnoff*⁴⁾ soll sie sowohl vom chemischen als vom thermodynamischen Standpunkt aus der Peptid-Bildung gleichen. Auch den Acetylierungen von Aminogruppen kommt innerhalb des Gesamtstoffwechsels eine allgemeine Bedeutung zu; dass sich dabei die Essigsäure als Acetyl-donor beteiligt, haben wir mit Deuterio-Essigsäure nachgewiesen⁵⁾.

¹⁾ *F. Friedmann* und *W. Türk*, *Bioch. Z.* **55**, 463 (1913).

²⁾ *J. W. Mitchell* und *W. S. Stewart*, *Bot. Gaz.* **101**, 410 (1931).

³⁾ *A. J. Quick*, *J. Biol. Chem.* **95**, 189 (1932).

⁴⁾ *H. Borsook* und *J. W. Dubnoff*, *J. Biol. Chem.* **132**, 307 (1940).

⁵⁾ *K. Bernhard*, *Z. physiol. Ch.* **267**, 91, 99 (1940); *K. Bernhard* und *H. Steinhäuser*, *Z. physiol. Ch.* **273**, 31 (1942).

Zusammenfassung.

1. In Fortsetzung früherer Untersuchungen über das Schicksal alicyclischer Verbindungen im Tierkörper verabreichten wir an Hunde, einem normalen Futter beigemischt, Decahydro- α - und Decahydro- β -naphthyllessigsäure.

2. Diese Säuren waren im Harn nicht nachweisbar, aus dem sich auch keine Dehydrierungs- oder andere Abbauprodukte isolieren liessen. Der Hund vermag demnach die beiden Verbindungen, im Gegensatz zu der α - und β -Decahydro-naphthoesäure, weitgehend zu oxydieren. Es werden die möglichen Abbauwege diskutiert.

3. α -Naphthyllessigsäure wird mit Glykokoll gepaart, d. h. als α -Naphthacetyl-glykokoll im Hundeharn ausgeschieden. Etwa 41% der verfütterten Säure, welche nicht unverändert im Harn auftrat, wurde auf diesem Wege eliminiert. Von verabreichtem α -Naphthacetyl-glycin erschienen 42% im Harn, der keine α -Naphthyllessigsäure enthielt.

Bei Kaninchen und Ratten liess sich diese Paarung mit Glykokoll nicht nachweisen.

4. Die β -Naphthyllessigsäure fanden wir nach Fütterung an den Hund im Harn zu 46%, bezogen auf die verabreichte Menge, wieder auf. Hunde und Kaninchen vermögen sie nicht mit Glykokoll zu paaren.

Physiologisch-chemisches Institut der Universität, Zürich.

84. Über ein Anhydrid der Naphtalin-1,5-disulfonsäure

von L. Blangey und H. E. Fierz-David.

(9. XI. 48.)

Wenn man Naphtalin-1,5-disulfonsaures Natrium z. B. zum Zweck der Weitersulfurierung in Oleum einträgt, so entsteht, wenn man eine stärkere Erwärmung vermeidet, so dass die Sulfurierung noch nicht erfolgt, ein dicker, eben noch rührbarer Brei. Verdünnt man eine Probe dieses Gemisches mit Eis, so geht nur ein Teil sofort in Lösung. Daneben entsteht ein sehr fein verteilter, farbloser Niederschlag, der sich weder in kaltem Wasser, noch in organischen Lösungsmitteln löst, der aber bei längerem Stehen mit Wasser in der Kälte allmählich in Lösung geht; beim Erwärmen mit Wasser tritt sofort Lösung ein. Das gleiche Produkt findet sich auch im rohen Reaktionsgemisch, das bei der Herstellung der Naphtalin-1,5-disulfonsäure durch Sulfurieren von Naphtalin mit Oleum erhalten wird.