Faßt man die Resultate zusammen und vergleicht man die hier erhaltenen Zahlen mit den bei der kolorimetrischen Bestimmung der Gesamt-Oxymethylanthrachinone erhaltenen, so ergibt sich:

1. daß die Menge der Gesamt-Oxymethylanthrachinone im Extrakte durch die Gegenwart von Magnesia nicht viel beeinflußt wird,

2. daß aber die Menge der gebundenen Oxymethylanthrachinone vermehrt ist. Diese besteht aus den ursprünglichen Anthraglykosiden und aus den im Extrakte löslichen, an Magnesia gebundenen Oxymethylanthrachinonen, die wenigstens zum Teil mit ausgezogen werden.

Diese Ergebnisse erklären, warum die Wirksamkeit des Extraktes, die ja nach der Tschirch'schen Vorstellung weniger auf den freien als vielmehr auf den gebundenen Oxymethylanthrachinonen beruht, nicht vermindert wird, wenn man zur Beseitigung der Bitterkeit bei der Bereitung Magnesia zusetzt.

Das ist der Grund, warum die Pharmacopoea helvetica Edit. IV bei der Bereitung des Sagraextractes Magnesia zusetzen läßt.

Aus dem Laboratorium für galenische Pharmazie der Universität Paris.

Von Professor Dr. Em. Bourquelot.

Ueber die Oxydation des Thymols durch das oxydierende Ferment der Champignons.

Von H. Cousin und H. Hérissé.

(Eingegangen den 15. IV. 1908.)

Wenn man eine wässrige Thymollösung der Einwirkung des oxydierenden Fermentes der Champignons unterwirft, so beobachtet man, daß sich bei Gegenwart von Luft sehr rasch eine weißliche Trübung bildet, die sich allmählich zu einem Niederschlag derselben Farbe verdichtet¹⁾.

¹⁾ Em. Bourquelot: Neue Untersuchungen über das oxydierende Ferment der Champignons. II. Seine Einwirkung auf die Phenole. Journ. de Pharm. et de Chim. (6), 4, 246 (1896).

Wir haben das Oxydationsprodukt, welches sich unter diesen Bedingungen bildet, studiert und haben um dasselbe darzustellen, zwei Quellen des betreffenden Fermentes benutzt; einestheils haben wir den Glyzerinauszug von *Russula delica* Fr. verwendet (2 Teile Glyzerin auf 1 Teil Champignons), anderenteils benutzten wir den Saft, welcher austritt, wenn der in dünne Scheiben zerschnittene *Lactarius controversus* Fr. mit Aether in Berührung gebracht wird. Der größte Teil unserer Versuche wurde unter Anwendung des Fermentes ersteren Ursprungs ausgeführt.

7,5 g Thymol wurden für diese Versuche in 10 l Wasser gelöst, die Lösung mit 200 ccm Fermentflüssigkeit, welche zuvor als sehr wirksam erprobt war, versetzt und das Gemisch bei 18—20° der Einwirkung eines starken Luftstromes ausgesetzt. Hierbei trat bald eine weißliche Trübung ein, die sich allmählich in einen ebenso gefärbten Niederschlag verwandelte, dessen Menge sich nach Verlauf von 4—5 Tagen kaum noch vermehrte. Das Gemisch wurde hierauf mit 10 ccm Essigsäure versetzt, um den Niederschlag zusammenzuballen und ihn hierdurch filtrierbar zu machen. Derselbe wurde alsdann abgesogen, mit Wasser ausgewaschen und bei niedriger Temperatur oder im Vakuum getrocknet.

Das auf diese Weise erhaltene Produkt setzt sich nicht aus einem unmittelbar definierten Stoffe zusammen. Dasselbe zeigt keine krystallinische Beschaffenheit; seine Farbe ist grauweiß. Es ist unlöslich in Wasser, zum Teil löslich in Alkohol, fast vollständig löslich in Chloroform und in Aether.

Zur Isolierung einer definierten Verbindung wurden 10 g des trockenen Oxydationsproduktes mit verdünnter Natronlauge (10 ccm Seifensiederlauge, 190 ccm Wasser) behandelt, die Flüssigkeit nach 12 stündigem Stehen filtriert und das Filtrat mit Essigsäure im geringen Ueberschuß versetzt. Hierdurch schied sich ein fast farbloses, krystallinisches Produkt aus, welches abgesogen, ausgewaschen, getrocknet und in der Kälte in Alkohol von 90% (25 ccm auf 1 g des Produktes), unter Zusatz von Tierkohle, gelöst wurde. Nach 24 stündigem Stehen wurde die filtrierte Lösung mit einem gleichen Volum heißen Wassers versetzt. Beim Erkalten schied sich alsdann ein vollständig farbloses, blättriges, krystallisiertes Produkt aus.

Dieses Produkt wurde mit Dithymol identifiziert, einer Verbindung, welche bereits von Dianin¹⁾ auf chemischem Wege, krystallisiert mit 1 Mol. Wasser, dargestellt ist.

Unsere Verbindung schmolz zum ersten Male bei 100—101° (Schmelzpunkt des Hydrats), wird dann wieder fest und schmilzt

¹⁾ Journ. Soc. chim. 14, 135 (1882).

dann von neuem bei $164,5^{\circ}$ (korr.). Dianine gibt $165,5^{\circ}$ als Schmelzpunkt des Dithymols an¹⁾. Dasselbe ist unlöslich in Wasser, leicht löslich in Alkohol und in Aether, sowie in der Wärme auch in Chloroform und in Benzol. Verdünnte Lösungen von Aetzalkalien lösen es ebenfalls leicht auf.

0,1623 g des Hydrats lieferten 0,4504 g CO_2 und 0,1336 g H_2O .

Gefunden:		Berechnet für $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}$:
C	75,68	75,94
H	9,14	8,86

Um die Identität endgültig festzustellen, haben wir das Dithymol auf chemischem Wege, besonders nach dem Verfahren von Dianine dargestellt, welches darin besteht, daß in der Wärme neutrales Eisenchlorid oder besser Eisenaalaun, bei Gegenwart von Calciumkarbonat, auf Thymol einwirkt. Im Verlauf dieser Versuche wurden wir veranlaßt, das Dianine'sche Verfahren vollständig zu modifizieren, indem wir das Thymol in der Kälte mit sehr verdünnter Eisenchloridlösung oxydierten.

Zu diesem Zweck fügt man 50 ccm einer alkoholischen Thymollösung 1:10 zu 10 l Wasser, welches auf $50\text{--}60^{\circ}$ erwärmt ist, schüttelt kräftig um und filtriert nach dem Erkalten. Hierauf setzt man 60 ccm Eisenchloridlösung (von 26% Fe_2Cl_6) zu und läßt das Gemisch bei einer 15° nicht übersteigenden Temperatur 3 bis 4 Tage lang stehen. Nach einiger Zeit trübt sich die Flüssigkeit und bildet sich dann ein hell gelbbrauner Niederschlag. Die Reinigung dieses Niederschlages erfolgt nach dem Absaugen und Auswaschen zunächst wie oben angegeben ist und schließlich durch Umkrystallisieren aus siedendem Alkohol von 60%. Ausbeute 25—30% vom Gewicht des angewendeten Thymols.

Durch Einwirkung von Brom (4 Atome) wird das in Chloroform gelöste Dithymol (1 Mol.) in Dibromdithymol: $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{Br}_2\text{O}_2$, durch Einwirkung von 6 Atomen Brom in Dibromdithymochinon: $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{Br}_2\text{O}_2$, verwandelt. Ersteres bildet weiße, prismatische, in Aetzalkalien lösliche Krystalle vom Schmp. $156\text{--}157^{\circ}$ (korr.); letzteres tief granatrote, mikroskopische, in Aetzalkalien unlösliche Prismen oder Nadeln vom Schmp. 134° (korr.).

¹⁾ Der Schmelzpunkt des Hydrats wurde im Block nach dem Verfahren des augenblicklichen Schmelzens bestimmt. Wenn man das Schmelzverfahren im Kapillarrohr anwendet, so ist es in der Tat unmöglich, eine solche Bestimmung korrekt auszuführen, da sich der Körper wenig vor seiner Schmelztemperatur bereits entwässert. Nach letzterer Methode haben wir dagegen den Schmelzpunkt der wasserfreien Verbindung ermittelt. Der Gebrauch des Blocks lieferte uns hier unter diesen Bedingungen keine genügend übereinstimmenden Werte.

Jedenfalls hat sich die durch Oxydation mit dem Ferment der Champignons erhaltene Verbindung als vollständig identisch erwiesen mit dem auf chemischem Wege erhältlichen Dithymol. Es ist wichtig, zu bemerken, daß das Dithymol, welches wir mit Hilfe der Fermente erhalten haben, sehr rein war, da die Auflösung desselben in verdünnter Natronlauge vollständig farblos erschien. In keinem Falle, sobald wir Sorge trugen mit genügend gereinigten Produkten zu operieren, haben wir die unter diesen Bedingungen von Dianine beobachtete orange Färbung konstatieren können.

Mit dem Ferment von *Russula delica* haben wir am leichtesten reines Dithymol erhalten; der Saft von *Lactarius controversus*, welcher gleichzeitig ein oxydierendes Ferment und Tyrosin enthält, hat uns ein sehr stark gefärbtes Oxydationsprodukt geliefert, dem wir erst durch eine Reihe von geeigneten Umkrystallisationen ein vollständig reines Produkt entziehen konnten.

Was die übrigen Produkte anbelangt, die durch die Oxydation des Thymols gebildet werden, so stellen dieselben ein graugelbes Pulver dar, welches unlöslich in Wasser, fast ganz löslich in Aether und in Chloroform, teilweise löslich in absolutem Alkohol ist. Diese Produkte scheinen uns nach einigen Versuchen chinonartiger Natur und durch Kondensation von mehr als 2 Molekülen Thymol gebildet zu sein. Bisher haben wir daraus kein krystallisiertes Produkt isolieren können, was uns verhindert hat genau die wirkliche chemische Natur desselben festzustellen.

Wie dem auch sei, so müssen wir uns bezüglich der biochemischen Oxydation des Thymols an die früher unter denselben Bedingungen bei anderen oxydierbaren Stoffen beobachteten Tatsachen anlehnen, wie bei dem Morphin und dem Vanillin¹⁾.

Das in Wasser unlösliche Oxydationsprodukt des Thymols besitzt keine antiseptische Wirkung; es ist unfähig die Entwicklung von Mikroorganismen in den Lösungen zu verhindern. Hieraus folgt, daß das Thymol — wie dies auch für andere Phenole der Fall sein könnte — uns unter manchen Umständen als ein schlechtes Antisepticum erscheint. Es kann somit nicht angewendet werden, um Lösungen oder Mazerationen, welche direkt oxydierend wirkende Fermente enthalten, bei Gegenwart von Luft, gegen Mikroorganismen zu schützen und zu konservieren.

¹⁾ J. Bougault, Oxydation des Morphins durch den Saft von *Russula delica* Fr., Journ. de Pharm. et de Chim. (6), 16, 49 (1902). R. Lérat, Oxydation des Vanillins durch das oxydierende Ferment der Champignons und des arabischen Gummis, Journ. de Pharm. et de Chim. (6), 19, 12 (1904).