

Aus dem Laboratorium für galenische Pharmazie
der Universität Paris.

Von Professor Dr. Em. Bourquelot.

Ueber das Prulaurasin, das Blausäure liefernde
Glykosid der Blätter von *Prunus laurocerasus*.

Von H. Hérisséy.

Nachdem Robiquet und Boutron-Charlard¹⁾ im Jahre 1830 das Amygdalin entdeckt hatten, ist dasselbe einige Jahre später von Liebig und Wöhler²⁾ eingehend untersucht worden. Letztere Forscher stellten die Zusammensetzung desselben fest und zeigten weiter, daß es unter dem Einfluß von Emulsin Traubenzucker, Cyanwasserstoffsäure und Benzaldehyd liefert.

Da viele Vegetabilien oder Teile von Vegetabilien, ähnlich wie die bitteren Mandeln, fähig sind, durch Anreiben mit Wasser, Cyanwasserstoff und den leicht zu charakterisierenden Benzaldehyd zu liefern, so gelangte man zu der Annahme, daß diese Erscheinung allgemein auf die Gegenwart von Amygdalin in den untersuchten Organen zurückzuführen sei. Man suchte daher dieses Amygdalin zu isolieren und erhielt es auch manchmal im krystallisierten Zustande, so z. B. aus einer Anzahl von Rosaceensamen, aus den Kernen der Kirschen, Pflaumen, Äpfel, Pfirsichen etc.³⁾ In einigen Fällen jedoch, besonders bei den chlorophyllhaltigen vegetabilischen Organen, führten die bezüglichlichen Untersuchungen nur zur Abscheidung amorpher Produkte, deren chemisches Studium sich infolgedessen schwierig und voll von Unsicherheit gestaltete. Dies ist auch bei den zahlreichen Arbeiten der Fall, die sich bis jetzt mit dem Nachweis eines Blausäure liefernden Stoffes in der Rinde von *Prunus Padus* und in den Blättern von *Prunus laurocerasus* beschäftigten. In der vorliegenden Arbeit soll nur der in den Kirschlorbeerblättern enthaltene, Blausäure liefernde Stoff ins Auge gefaßt werden.

Die Isolierung der Blausäure liefernden Verbindung der Kirschlorbeerblätter im reinen Zustande ist nacheinander von Widt-

¹⁾ Ann. de Chim. et Phys. (2), 44, 352—382 (1830).

²⁾ Ann. d. Pharm. 22, 1—24 (1837).

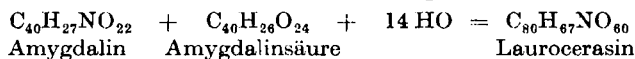
³⁾ E. Lehmann, Pharm. Ztschr. f. Rußland 13, 33, 65 (1874) und 24, 353, 369, 385, 401 (1885).

mann, von Denk¹⁾, von Liebig und Wöhler²⁾, von Winckler³⁾, von Simon⁴⁾, von Michelson⁵⁾, von Lehmann⁶⁾, von Bougarel⁷⁾ und von Jouck⁸⁾ versucht worden. Ich führe hier nur einige der für diese Untersuchungen benutzten Methoden an und beschränke mich auf die Erörterung der in der Arbeit von Lehmann gezogenen Schlüsse.

Winckler digerierte die zerkleinerten frischen Kirschlorbeerblätter bei mäßiger Wärme mit Alkohol, unterwarf die erhaltenen Auszüge der Destillation, befreite den Rückstand durch Schütteln mit Aether von Chlorophyll und entfernte dann den Gerbstoff durch Fällung mit Bleiacetat. Das Filtrat wurde hierauf durch Zusatz von Natriumsulfat von dem Bleiüberschuß befreit, eingedampft und der Rückstand mit absolutem Alkohol extrahiert. Da letzterer Auszug eine kleine Menge Natriumnitrat enthielt, so wurde er von neuem eingedampft und der Verdampfungsrückstand abermals mit absolutem Alkohol behandelt. Beim Verdunsten hinterließ letztere Lösung das „amorphe Amygdalin“.

Simon schüttelte die aus getrockneten Kirschlorbeerblättern bereitete alkoholische Tinktur mit Bleioxyd, verdampfte das Filtrat und reinigte den Rückstand durch Aufnehmen mit Alkohol.

Lehmann⁹⁾ erschöpfte die Kirschlorbeerblätter heiß mit Alkohol, ließ die Auszüge längere Zeit in Berührung mit Bleioxyd und fällte das Filtrat mit Aether. Der Niederschlag wurde durch wiederholtes Lösen in Alkohol, Entfärben mit Tierkohle und erneutes Fällen mit Aether gereinigt. Lehmann erteilt dem von ihm als Laurocerasin bezeichneten Stoffe folgende Formel ($C = C$):



Lehmann faßt das Laurocerasin als eine Art Zwischenprodukt zwischen dem Amygdalin und der Amygdalinsäure, als amygdalinsäures Amygdalin, auf. Diese sonderbare

¹⁾ Rep. d. Pharm. 45, 423 (1833).

²⁾ l. c.

³⁾ Rep. d. Pharm. (2) 15, 1 (1839).

⁴⁾ Ann. d. Pharm. 31, 263 (1839).

⁵⁾ Russische Dissertation.

⁶⁾ l. c.

⁷⁾ These, Paris 1877.

⁸⁾ Dieses Archiv 243, 424 (1905).

⁹⁾ Dieser Autor gibt nicht genau an, ob es sich um frische oder getrocknete Blätter handelt, jedoch scheinen mehr die letzteren in Betracht zu kommen.

Annahme Lehmann's hat zurzeit in fast alle größeren Lehrbücher, sowie in dem Unterricht Eingang gefunden, obschon sie von vornherein nur wenig wahrscheinlich ist.

Auch die neuesten Untersuchungen von J o u c k haben diese Frage kaum aufgeklärt. J o u c k entzog den trockenen Kirschlorbeerblättern einen amorphen Stoff, dessen Analyse nicht gestattet, eine genaue Formel aufzustellen, da die gefundenen Werte ebensogut zu $C_{42}H_{80}NO_{21}$, wie zu $C_{42}H_{82}NO_{21}$ führen.

Bereits vor dem Erscheinen der Arbeit von J o u c k habe ich, veranlaßt durch die Unsicherheit, welche alle den aufgezählten früheren Resultaten anhaftet, von neuem eine chemische Studie über die Entstehung der Blausäure in den Kirschlorbeerblättern unternommen.

Darstellung des Prulaurasins.

Zur Anwendung gelangten die frischen Blätter von *Prunus laurocerasus*. 5000 g ganzer Blätter wurden in Anteilen von 300 g 10 Minuten lang in 15 l siedendes destilliertes Wasser, dem etwas Calciumkarbonat zugefügt war, eingetaucht. Die Blätter wurden alsdann, nachdem auf diese Weise das darin enthaltene Emulsin zerstört worden war, mit der Maschine zerkleinert und das gesamte Material hierauf mit der ursprünglichen Flüssigkeit noch kurze Zeit gekocht. Nach dem Erkalten wurden die Blätter ausgepreßt, der Auszug mit Eiweiß geklärt und filtriert. Auf diese Weise wurden 7,5—8 l Flüssigkeit erhalten. Bei dieser ersten Behandlung der Blätter kann man auch an Stelle von Wasser Alkohol anwenden, jedoch muß derselbe ebenfalls siedend sein. Taucht man die frischen Blätter in kalten oder mäßig warmen Alkohol und erhitzt dann zum Sieden, so tritt eine Zersetzung des Prulaurasins ein, welche sich durch das Auftreten eines starken Geruchs nach Blausäure und nach Benzaldehyd bemerkbar macht.

Diese Erscheinung findet dadurch eine Erklärung, daß unter dem Einfluß des Alkohols eine Diffusion von einer Zelle zur anderen stattfindet, so daß das Enzym mit dem leicht zersetzlichen Glykosid in Berührung kommt und ein Teil desselben gespalten wird. Von vornherein sollte man nicht vermuten, daß sich diese Zersetzung in der alkoholischen Flüssigkeit vollziehen könne, da der Alkohol an sich ein Liquidum ist, welches für eine derartige Fermentwirkung absolut ungünstig ist. Dagegen gestattet die Anwendung des siedenden Alkohols die glatte Extraktion des Glykosids, da derselbe sofort die lebende Zelle tötet und das Ferment koaguliert.

Gleichgültig, ob man Wasser oder Alkohol zur Extraktion angewendet hat, sind die erhaltenen Auszüge, nach Zusatz von etwas Calciumkarbonat, bei vermindertem Druck bis auf einen Rückstand von etwa 200 ccm abzudestillieren, welchen man alsdann mit dem vierfachen Volum Alkohol von 85% versetzt. Hierdurch scheidet sich ein voluminöser Niederschlag aus, welchen man nach Verlauf von 24 Stunden abfiltriert und beseitigt. Die klare Flüssigkeit ist hierauf zunächst im Wasserbade, dann unter vermindertem Druck in einem Kolben zur Trockne abzudestillieren und der Rückstand am Rückflußkühler 5 mal mit je 200 ccm Essigäther, der mit Wasser gesättigt ist, auszukochen. Die so erhaltenen Auszüge werden alsdann vollständig verdampft und der Rückstand in 250 ccm Wasser gelöst. Nach dem Klären dieser Lösung durch Schütteln mit etwas Calciumkarbonat und darauffolgendem Filtrieren wird dieselbe zur Beseitigung einer Anzahl störend wirkender Verunreinigungen vier- bis fünfmal mit dem doppelten Volum Aether geschüttelt und hierauf bei niedriger Temperatur und Gegenwart von Calciumkarbonat zur Trockne eingedampft. Der Rückstand ist alsdann am Rückflußkühler mit 250 ccm wasserfreiem Essigäther auszukochen.

Von diesem Stadium der Darstellung des Prulaurasins an ist es von Wichtigkeit, nur vollkommen reine und gut entwässerte organische Lösungsmittel zur weiteren Reinigung anzuwenden.

Diese letzte Lösung in Essigäther ist nur noch sehr wenig gefärbt, so daß sie beim Verdampfen unter vermindertem Druck 40—45 g eines Rückstandes liefert, welcher fähig ist, vollständig zu krystallisieren, namentlich wenn man ihn mit einem Krystall von früher bereits dargestelltem Prulaurasin impft. Wenn man versucht, diesen Rückstand mit wenig Alkohol oder Essigäther zu behandeln und schließlich damit zu waschen und abzusaugen, so löst er sich rasch in den hierbei angewendeten Flüssigkeiten, sobald dieselben in genügender Menge zur Anwendung gelangen, wieder auf. Andererseits darf man diesen krystallisierten Rückstand nicht ohne weiteres als homogen betrachten, vielmehr ist es vorzuziehen, denselben noch aus einem geeigneten Lösungsmittel umzukrystallisieren. Man löst ihn zu diesem Zwecke entweder von neuem in wasserfreiem Essigäther oder besser in einem Gemisch von Essigäther und Toluol oder von Essigäther und Chloroform. Die heiß bereiteten Lösungen scheiden einen Teil des Glykosids in Extraktform ab, der jedoch alsbald krystallinisch erstarrt. Man erhält jedoch ein vollständig weißes, gut krystallisiertes Produkt, wenn man der erkalteten Lösung kleine Mengen reinen, wasserfreien Aethers zufügt. Die Krystallisationen erfolgen dann im allgemeinen innerhalb einiger Tage.

Das Glykosid scheidet sich hierbei in feinen Nadeln ab, die bisweilen eine Länge von mehreren Zentimetern erreichen. Man saugt dieselben alsdann ab, wäscht sie rasch zunächst mit einem Gemisch aus Essigäther und Aether und alsdann mit reinem Aether nach und trocknet sie im Vakuum über Schwefelsäure. Die leichte Löslichkeit des Prulaurasins bildet die größte Schwierigkeit seiner Darstellung.

Diese Darstellungsmethode, deren ich mich nach zahlreichen Versuchen bediente, schließt die Anwendung jedes Klärungsmittels aus und wendet ausschließlich neutrale Lösungsmittel an.

Eigenschaften des Prulaurasins.

Das Prulaurasin scheint die Fähigkeit zu besitzen, vielleicht je nach dem verschiedenen Wassergehalt, in verschiedenen Formen zu krystallisieren. Bei der ersten Krystallisation in Massen aus dem eingedampften Essigätherextrakt resultierte es in kleinen Prismen. Die nachstehenden Angaben beziehen sich auf das in dünnen Nadeln krystallisierte, im Vakuum über Schwefelsäure getrocknete Produkt.

In letzterer Form verliert das Prulaurasin beim längeren Trocknen im Wassertrockenschranke kaum merklich an Gewicht. Dasselbe ist farb- und geruchlos; es besitzt einen bitteren Geschmack. Es schmilzt bei 120—122° zu einer dicken, farblosen Flüssigkeit. In Wasser, Alkohol und Essigäther ist es sehr leicht löslich, dagegen ist es unlöslich in Aether.

Das Prulaurasin ist spaltbar durch Emulsin und zeigt daher, wie alle bisher bekannten, durch dieses Ferment spaltbaren Glykoside, Linksdrehung. Für Produkte von verschiedenen Krystallisationen wurde folgendes gefunden:

1. $[\alpha]_D = -54,60^\circ$ ($v = 15$ cm, $l = 2$, $p = 0,2243$, $\alpha = -1,633^\circ$).
2. $[\alpha]_D = -52,63^\circ$ ($v = 15$ cm, $l = 2$, $p = 0,2850$, $\alpha = -2^\circ$).
3. $[\alpha]_D = -52,75^\circ$ ($v = 25$ cm, $l = 2$, $p = 0,9635$, $\alpha = -4,066^\circ$).

Bei 13—20° zersetzt das Emulsin (0,2 g: 20 cm) rasch das Prulaurasin in wässriger Lösung, z. B. 1:100. Man kann die Reaktion nach Verlauf von weniger als 2 Tagen als beendet betrachten. Es bildet sich hierbei Cyanwasserstoff, Traubenzucker und Benzaldehyd.

Der Cyanwasserstoff wurde nach der Methode von Liebig-Denigès in dem Destillat einer durch Emulsin gespaltenen Lösung einer abgewogenen Menge des Glykosids bestimmt: 0,5781 g lieferten 0,04968 g HCN = 8,59%.

Der Traubenzucker wurde mit Fehling'scher Kupferlösung in einer zuvor gespaltenen und dann in geeigneter Weise geklärten Lösung des Prulaurasins bestimmt: 0,2867 g Glykosid lieferten 0,1756 g Traubenzucker = 61,24%. Man hat immer gefunden, daß die polarimetrischen Resultate, welche bei der Prüfung einer durch Emulsin gespaltenen Glykosidlösung erhalten werden, mit denen übereinstimmen, welche die Titration mit Fehling'scher Lösung, unter Annahme des Vorliegens von Traubenzucker ($\alpha_{[D]} = +52,5^{\circ}$), ermittelt werden.

Der aus dem Prulaurasin abgespaltene Zucker wurde auch kristallisiert erhalten, unter Impfung mit Traubenzucker, so daß an dessen Identität nicht zu zweifeln ist.

Der Benzaldehyd, welcher sich bereits durch den Geruch kennzeichnet, wurde noch durch Ueberführung in sein Phenylhydrazon vom Schmp. 151° identifiziert.

Die kryoskopische Bestimmung der Molekulargröße ergab in wässriger Lösung:

$$M = 18,5 \times \frac{3,9585}{0,245} = 298,8.$$

0,1497 g Prulaurasin lieferten 0,3115 g CO_2 und 0,0798 g H_2O .

Die ermittelten Daten führen für das Prulaurasin zu der Formel $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{NO}_6$. Die Spaltung desselben durch Emulsin erfolgt im Sinne der Gleichung:

$\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{NO}_6 + \text{H}_2\text{O} = \text{C}_7\text{H}_6\text{O} + \text{HCN} + \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	
Berechnet für $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{NO}_6$:	
Molekulargewicht	295
HCN	9,15
Traubenzucker	61,01
C	56,94
H	5,72
Gefunden:	
	298,8
	8,59
	61,24
	56,74
	5,91

Das Prulaurasin ist als ein Isomeres des Amygdonitrilglykosids von E. Fischer¹⁾ und des Sambunigrins von E. m. Bourquelot und Danjou²⁾ zu betrachten. Seine Löslichkeit, sein Schmelzpunkt und sein Drehungsvermögen liegen in der Mitte zwischen denen jener beiden Glykoside, so daß dasselbe mit keinem von beiden identisch ist.

Ich gedenke das Studium des Prulaurasins, besonders die Einwirkung von Säuren und von Basen darauf, fortzusetzen.

¹⁾ Ber. d. chem. Ges. 28, 1508 (1895).

²⁾ Dieses Archiv 1907, 204.