



ÜBER EINIGE ESTER
DER
SALICYLSÄURE
UND
IHR VERHALTEN IM ORGANISMUS.

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE
EINER HOHEN
MEDICINISCHEN FACULTÄT ZU BERN

VORGELEGT VON

MAXMILIAN LESNIK
AUS WARSCHAU.

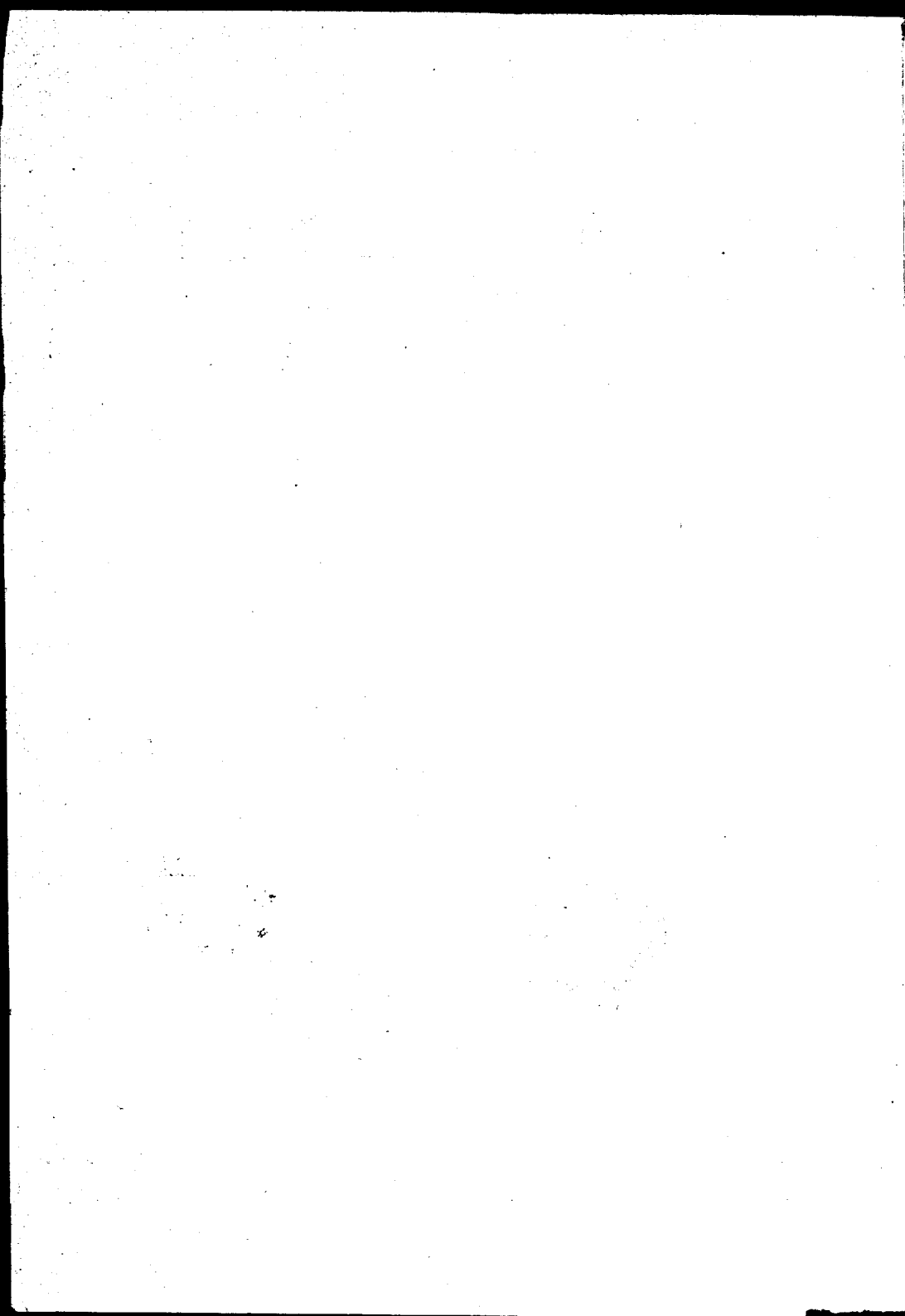
Auf Antrag des Herrn Prof. v. NENCKI von der Facultät zum Drucke
genehmigt.

Bern, den 16. November 1887.

Der Dekan: H. KRONECKER.



LEIPZIG,
DRUCK VON J. B. HIRSCHFELD.
1887.



ÜBER EINIGE ESTER
DER
SALICYLSÄURE
UND
IHR VERHALTEN IM ORGANISMUS.

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE
EINER HOHEN
MEDICINISCHEN FACULTÄT ZU BERN

VORGELEGT VON

MAXMILIAN LESNIK
AUS WARSCHAU.

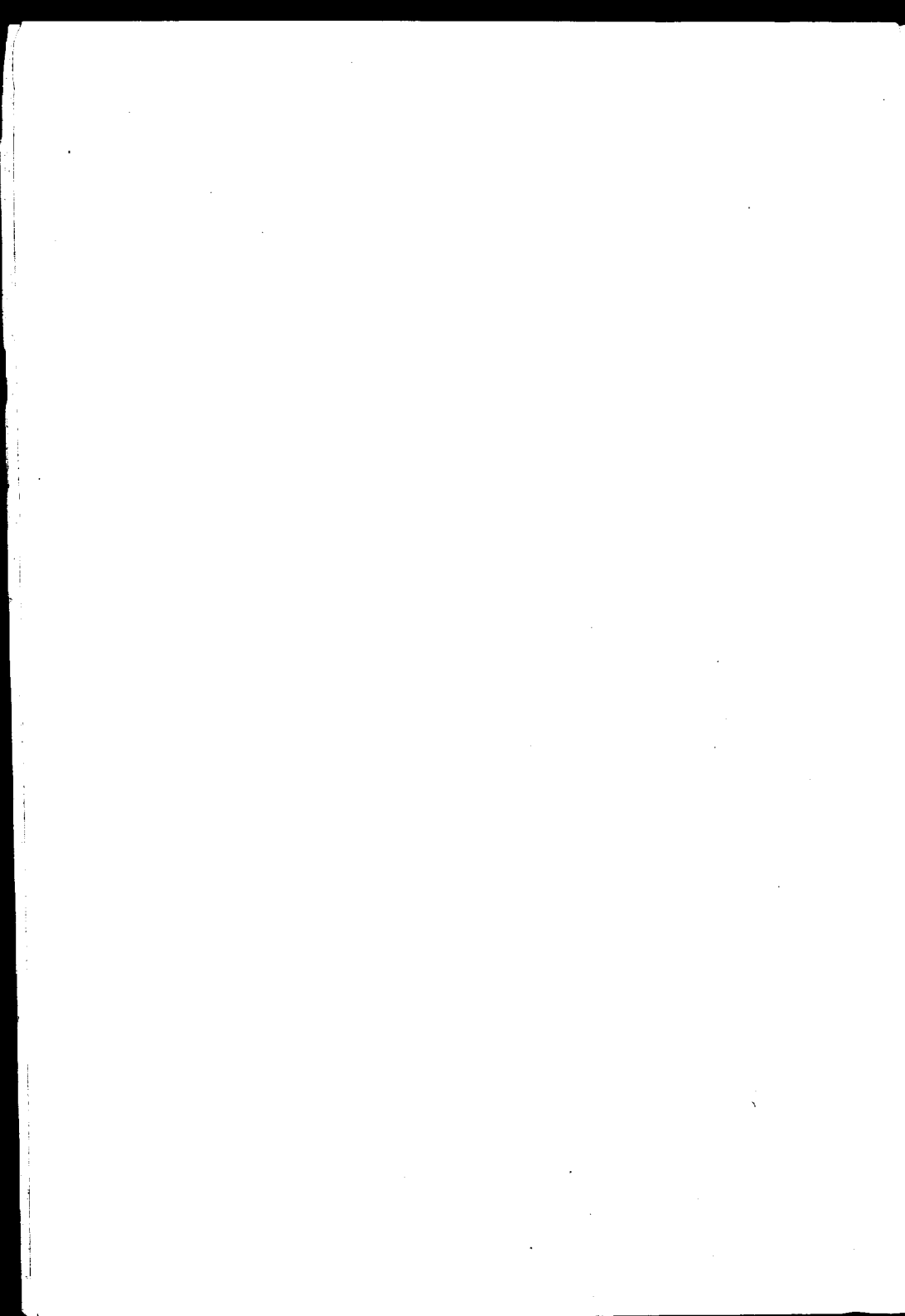
Auf Antrag des Herrn Prof. v. NENCKI von der Facultät zum Drucke
genehmigt.

Bern, den 16. November 1887.

Der Dekan: H. KRONECKER



LEIPZIG,
DRUCK VON J. B. HIRSCHFELD.
1887.



Die Veranlassung zu den in Folgendem zu beschreibenden Versuchen sind die Ergebnisse der im hiesigen Laboratorium ausgeführten Arbeiten über die Spaltung der Säureester der aromatischen Verbindungen im Organismus und durch Pankreas. Durch Prof. Nencki ist es bekannt, dass die Säureester der verschiedensten Phenole, welche nach einem allgemeinen, von ihm gefundenen Verfahren mittelst Phosphoroychlorid leicht in beliebiger Menge erhältlich sind, im Organismus in ihre Componenten zerlegt werden. So das bernsteinsäure und benzoësaure Phenol, welches letztere als Hippursäure und Phenolätherschwefelsäure in den Harn übergeht; dagegen konnten nach Verabreichung des salicylsauren Resorcins dessen Spaltungsproducte im Harn nicht aufgefunden werden.

Das Verhalten des salicylsauren Phenols, resp. dessen Spaltung in Salicylsäure und Phenol im Organismus, war schon bei den früheren Versuchen, welche im Jahre 1853 ausgeführt wurden, constatirt. Aus äusseren Gründen unterblieb jedoch die Erwähnung dieses Versuchs. Seither ist gerade das Verhalten dieses Esters im Organismus von praktischer Bedeutung geworden, und das salicylsäure Phenol, jetzt Salol genannt, ist in der Therapie ein geschätztes Arzneimittel. Auf Wunsch von Prof. Nencki habe ich noch eine Reihe anderer Salicylsäureester nach seinem Verfahren dargestellt und ihr Verhalten im Organismus studirt, sowie auch bezüglich des Salols einige ergänzende Versuche angestellt. In Folgendem will ich die Ergebnisse meiner Arbeit beschreiben:

Salicylsaures α - und β -Naphtol.

Zur Darstellung des salicylsauren β -Naphtols werden äquivalente Mengen der beiden Substanzen auf dem Sandbade zum Schmelzen erhitzt und in die geschmolzene Masse so lange Phosphoroxychlorid in kleinen Portionen eingetragen, als noch Salzsäure entweicht. Die nach beendeter Einwirkung erhaltene, erkaltete syrupige Schmelze wird mit viel Wasser, sodann mit verdünnter Sodalösung gewaschen, nach welchen Manipulationen das Rohproduct krystallinisch wird. Durch zweimaliges Umkrystallisiren aus heissem Alkohol wurde der Ester in schneeweißen, schönen Krystallen erhalten. Schmelzpunkt 95°. Die Elementaranalyse des über SO_4H_2 getrockneten Productes ergab mit der Formel: $\text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{CO} \cdot \text{O} \cdot \text{C}_{10}\text{H}_7$ übereinstimmende Zahlen.

Gef. C 77,15 Proc., H 4,71 Proc., ber. C 77,27 Proc. und 4,54 Proc. H.

Auf ganz gleiche Weise wurde der Ester aus Salicylsäure und α -Naphtol bereitet. Der Körper krystallisirt etwas schwieriger und musste, um völlig rein in weissen Krystallen erhalten zu werden, mehrmals aus Alkohol umkrystallisirt werden. Er schmilzt bei 88°. Bei der Verbrennung wurden folgende Zahlen erhalten: 0,2012 g der über SO_4H_2 getrockneten Substanz gaben 0,5694 g CO_2 und 0,0902 g H_2O , entsprechend 77,13 Proc. C und 4,98 Proc. H.

Beide Ester sind geruch- und geschmacklos.

Nach der Analogie mit dem benzoësauren oder salicylsauren Phenol war zu erwarten, dass diese Ester im Organismus in Salicylsäure und Naphtol zerlegt werden. Dass die Salicylsäure grösstentheils als Salicylursäure ausgeschieden wird, ist seit der Arbeit von Bertagnini bekannt.

Ueber das Verhalten der beiden Naphtole im Organismus war nur durch J. Mauthner bekannt, dass das β -Naphtol vom Menschen als Aetherschwefelsäure ausgeschieden wird.

Es war daher wünschenswerth, vor den Versuchen mit den salicylsauren Naphtolen die Ausscheidungsform der Naphtole selbst, aus dem menschlichen Organismus zu ermitteln. Die von Prof. Nencki und mir ausgeführten Fütterungsversuche an Hunden und Menschen haben das interessante Resultat ergeben, dass die beiden Naphtole nur zum geringen Theile als Aetherschwefelsäuren, hauptsächlich aber als Glykouronsäuren ausgeschieden werden. Das Verfahren, um die resp. Säuren aus dem Harn zu isoliren, ist folgendes 1):

1) Eine kurze Mittheilung über die beiden Naphtolglykouronsäuren haben wir bereits in dem Jahrgang 1866 d. Berl. chem. Ber. S. 1534 veröffentlicht.

Der nach täglichen Dosen von 3—5 g α - oder β -Naphтол in den nächsten 30 Stunden gelassene Harn wird mit Bleiessig vollkommen ausgefällt, der entstandene Bleiniederschlag mit kaltem Wasser ausgewaschen, auf Fliesspapier an der Luft getrocknet, sodann mit überschüssiger Salzsäure (spec. Gew. 1,12) zu einem Brei angerührt und mit Aether extrahirt. Die abgehobene ätherische Schicht hinterlässt nach Abdestilliren des Aethers einen syrupösen Rückstand, der nach Eingabe von β -Naphтол durch Zusatz von etwas Wasser in wenigen Minuten zu einem Krystallbrei erstarrt. Die Abscheidung der α -Naphтолglykouronsäure geht etwas langsamer vor sich, doch krystallisirt auch diese Säure nach etwa 24 stündigem Stehen ziemlich vollständig aus.

Die abfiltrirten und zwischen Fliesspapier abgepressten Krystalle der β -Naphтолglykouronsäure werden zunächst durch Schütteln mit Chloroform, worin sie nur spurenweise löslich sind, von etwas beigemengtem Naphтол befreit. Durch 2—3 maliges Umkrystallisiren aus heissem Wasser unter Zusatz von Thierkohle werden sie dann in farblosen, oft mehrere Centimeter langen Nadeln erhalten. Die lufttrockenen Krystalle sind nach der Formel $C_{16}H_{16}O_7 + 2H_2O$ zusammengesetzt. Bei 100° oder schon nach längerem Liegen über Schwefelsäure verliert die Säure ihr Krystallwasser vollständig. 0,5347 g der lufttrockenen Substanz verloren bei 100° 0,054 g oder 10,10 Proc., und 0,2256 g der bei 100° getrockneten Säure gaben 0,4974 g Kohlensäure und 0,1091 g Wasser oder 60,12 Proc. Kohlenstoff und 5,37 Proc. Wasserstoff. Die Formel $C_{16}H_{16}O_7$ verlangt 60,0 Proc. Kohlenstoff und 5,0 Proc. Wasserstoff.

Die β -Naphтолglykouronsäure ist in kaltem Wasser nur wenig löslich, viel leichter in heissem und wird deshalb mit Vortheil durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser gereinigt. In Alkohol und Aether ist sie leichter löslich. Durch Mineralsäuren — Salzsäure, verdünnte Schwefelsäure — wird sie in Naphтол und Glykouronsäure gespalten. Sie ist optisch wirksam und linksdrehend. Im Mittel aus mehreren Bestimmungen haben wir den specifischen Drehungswinkel $\alpha = -88^\circ$ gefunden. Im Capillarröhrchen schmilzt sie bei 150°. An der Luft werden die farblosen Krystalle allmählich gelb.

Das Calciumsalz ist in Wasser leicht löslich und enthält lufttrocken 2 Moleküle Krystallwasser. Bei 100° bis zu constantem Gewicht getrocknet, verliert es die Hälfte des Krystallwassers. 0,2863 g des lufttrockenen Salzes verloren bei 100° 0,0140 g an Gewicht, entsprechend 4,88 Proc. Die Formel $C_{16}H_{15}CaO_7 + 2H_2O$ verlangt für den Gewichtsverlust von einem Molekül Krystallwasser 4,8 Proc.

0,2723 g des bei 100° getrockneten Kalksalzes enthielten 0,0199 g Calciumoxyd — 5,2 Proc. Calcium. Die Formel $C_{16}H_{15}CaO_7 + H_2O$ verlangt 5,60 Proc. Calcium. Aehnlich wie vom Hunde wird auch vom Menschen das eingenommene β -Naphthol hauptsächlich in Verbindung mit Glykouronsäure ausgeschieden. Die aus Menschenharn nach gleichem Verfahren erhaltene β -Naphtholglykouronsäure erwies sich als mit der aus dem Hundeharn dargestellten identisch. Die nach Eingabe von α -Naphthol in dem Harn auftretende α -Naphtholglykouronsäure krystallisiert ebenfalls in langen, farblosen Nadeln. In Wasser ist sie leichter löslich als die β -Säure. Sie schmilzt bei 202—203°. Durch Mineralsäuren wird sie ebenfalls in Glykouronsäure und α -Naphthol gespalten. Die Elementaranalyse der bei 100° getrockneten Säure ergab uns folgende Zahlen: 0,2284 g Substanz gab 0,503 g Kohlensäure und 0,1094 g Wasser oder 60,06 Proc. Kohlenstoff und 5,32 Proc. Wasserstoff.

Sehr charakteristisch ist das Verhalten dieser Säure gegen concentrirte Schwefelsäure. Wässrige Lösung von α -Naphtholglykouronsäure mit concentrirter Schwefelsäure versetzt, färbt sich intensiv smaragdgrün. Die Reaction gelingt am besten in der Weise, dass man die Lösung der Säure aus einem Reagensröhrchen ausgiesst und zu der im Röhrchen zurückbleibenden Spur Flüssigkeit ungefähr 1 cem concentrirte Schwefelsäure zufließen lässt. Die Farbe erscheint besonders schön an der Berührungsfläche der beiden Flüssigkeitsschichten. Die Farbe ist nicht lange beständig und geht allmählich in ein schmutziges Graugrün über. Da Spuren der α -Naphtholglykouronsäure auch im Chloroform löslich sind, so wird die Chloroformlösung, mit concentrirter Schwefelsäure versetzt, ebenfalls grün. Eine wässrige Lösung der β -Naphtholglykouronsäure in gleicher Weise behandelt, zeigt an der Berührungsstelle der beiden Flüssigkeitsschichten schöne blaugrüne Färbung. Gleichzeitig wird die obere wässrige Schicht milchig. Beim Schütteln der Flüssigkeit färbt sich Alles schmutzig grün.

Das Verhalten der α -Naphtholglykouronsäure gegen concentrirte Schwefelsäure erklärt uns eine analoge, von Penzoldt¹⁾ im Harn nach Naphthalingebrauch beobachtete Erscheinung, die er folgendermaassen beschreibt: „Fügt man zu einigen Tropfen des nach Naphthalingebrauch gelassenen Harns ungefähr 1 cem concentrirte Schwefelsäure, so wird sofort der oben schwimmende Harn dunkelgrün gefärbt. An der Grenze beider Flüssigkeiten erscheint die grüne Farbe be-

1) Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmakol. XXI. Bd. S. 34. 1886.

sonders prächtig. Nach und nach färbt sich die ganze Flüssigkeit dunkelgrün. Die Farbe ist jedoch nicht für längere Zeit beständig, sondern geht später in ein schmutziges Grau- oder Braungrün über.“

Die Annahme lag nahe, dass, ähnlich wie Benzol zu Phenol, das Naphtalin im Organismus zu α -Naphtol oxydirt werde und die darnach im Harn auftretende α -Naphtolglykouronsäure die Ursache der Grünfärbung des Harns durch concentrirte Schwefelsäure ist.

Der directe Versuch hat auch diese Vermuthung bestätigt. Wir haben aus dem Hunde- wie aus dem Menschenharn nach Gebrauch von 2—3 g Naphtalin pro die die α -Naphtolglykouronsäure isolirt. Aus den nach Verabreichung von etwa 12 g Naphtalin in der oben beschriebenen Weise verarbeiteten Bleiniederschlägen haben wir in geringer Menge die α -Naphtolglykouronsäure, chemisch rein, Schmelzpunkt 202°, dargestellt.

Baumann und Herter¹⁾ haben bei einem Hunde, der 5 g Naphtalin erhielt, die Aetherschwefelsäure im Harn bedeutend vermehrt gefunden. Durch Destillation des mit Salzsäure versetzten Harns konnten sie jedoch kein Naphtol gewinnen. Mit den Wasserdämpfen ging nur unverändertes Naphtalin über. Aus unseren Versuchen geht hervor, dass Naphtalin ähnlich wie Benzol im Organismus oxydirt wird. Da der Harn sowohl nach Naphtalin, wie nach den beiden Naphtolen an der Luft sich dunkel färbt und Lösungen der Dioxynaphtaline, namentlich des α -Dioxynaphtalins sich an der Luft rasch schwärzen, so unterliegt es keinem Zweifel, dass das Naphtalin im Thierkörper nicht allein zu α -Naphtol, sondern auch zu Dioxynaphtalinen oxydirt wird, welche dann theils als Aetherschwefelsäuren, theils als Glykouronsäuren ausgeschieden werden.

Auf Grund unserer Versuche war also zu erwarten, dass die Salicylsäureester der Naphtole im Organismus zerlegt und einerseits als Salicylursäure, andererseits als Naphtolätherschwefelsäuren, resp. Naphtolglykouronsäuren ausgeschieden werden. Nachdem durch Versuche am Hunde die Unschädlichkeit dieser Ester erprobt war, haben wir am Menschen damit Versuche gemacht. Ein kräftiger, gesunder Mann nahm im Laufe eines Tages 12 g salicylsaures β -Naphtol ein. Subjective Beschwerden hat er dabei nicht empfunden. Der Harn war eiweissfrei und färbte sich mit Eisenchlorid stark violett. Er wurde auf dem Wasserbade zu Syrup verdunstet, mit Alkohol extrahirt, der alkoholische Auszug von Neuem eingedampft, der erkaltete Rückstand mit Salzsäure angesäuert und mit Aether extrahirt.

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. I. Bd. S. 267.

Nach Abdestilliren des Aetherextractes hinterblieb ein saurer Rückstand, der sehr bald krystallinisch erstarrte, und nach zweimaligem Umkrystallisiren aus heissem Wasser, unter Zusatz von Thierkohle, habe ich die Krystalle ganz rein und weiss erhalten. Der Schmelzpunkt der lufttrockenen Krystalle lag bei 160°. Der Körper war stickstoffhaltig, färbte sich mit Eisenchlorid violett, so dass mit ziemlicher Sicherheit anzunehmen war, dass Salicylursäure vorliegt. Eine Kohlenwasserstoffbestimmung bestätigte die Vermuthung. 0,2510 g der Substanz gaben 0,5104 g CO₂ und 0,1085 g H₂O, oder 55,45 Proc. C und 4,80 Proc. H. Die Formel C₉H₉NO₄ verlangt 55,38 Proc. C und 4,61 Proc. H.

Um die Naphtolglykouronsäure nach salicylsaurem β-Naphtol im Harn nachzuweisen, habe ich an mir selbst den Versuch wiederholt und nahm innerhalb 2 Tagen 18 g des Esters ein. Die 48stündige darauf gelassene Harnmenge wurde jedesmal frisch mit Bleiessig gefällt und die gut ausgewaschenen Niederschläge auf die früher beschriebene Weise auf Naphtolglykouronsäure verarbeitet. Nach dem Abdestilliren des Aethers hinterblieb ein bräunlicher Rückstand, welcher in eine Schale ausgegossen und mit wenig Wasser nachgespült wurde. Schon nach einer Stunde schied sich daraus eine krystallinische Substanz ab, und da die Mutterlauge der Krystalle sich mit Eisenchlorid violett färbte und eine Verunreinigung der β-Naphtolglykouronsäure durch etwa mitgefällte Salicylursäure zu befürchten war, so habe ich die Krystalle gleich abfiltrirt und mit etwas Wasser nachgewaschen. Die erhaltenen Krystalle zwischen Fliesspapier abgepresst und wiederholt aus heissem Wasser umkrystallisirt, erwiesen sich als β-Naphtolglykouronsäure. Der Schmelzpunkt der bei 100° getrockneten Krystalle lag bei 150°. Die wässrige Lösung der Krystalle gab, mit concentrirter Schwefelsäure versetzt, an der Berührungsstelle der beiden Flüssigkeiten eine blaugrüne Färbung und mit verdünnter Schwefelsäure gekocht, sodann mit etwas Kupfervitriol und mit Natronlauge im Ueberschusse versetzt, reducirte die Substanz das Kupferoxyd zu Oxydul. Die Menge des Rohproductes war nicht gering, das aber durch wiederholte Reinigung sehr zusammenschmolz. Auch ist ein Theil des im Darne abgespaltenen β-Naphtols als Naphtolätherschwefelsäure ausgeschieden worden.

Aus der Mutterlauge der β-Naphtolglykouronsäure schieden sich nach 2 tägigem Stehen neue Krystalle aus, welche abfiltrirt und zwischen Fliesspapier abgepresst wurden. Einmal aus heissem Wasser umkrystallisirt, war der Körper ziemlich weiss, zeigte aber mit Eisenchlorid starke Salicylursäurereaction. Um nun die Salicylursäure rein

darzustellen, habe ich die Säure durch Kochen mit kohlensaurem Baryt in das Barytsalz verwandelt, da nach den Angaben von Bertagnini salicylursaures Barium in Wasser schwer löslich ist. Im Gegensatz hierzu war mein Salz leicht löslich und krystallisirte erst aus, als die Lösung ziemlich stark eingeeugt war. Das erhaltene Barytsalz wurde jetzt von Neuem in Wasser gelöst und mit Salzsäure die freie Säure abgeschieden. Sie fiel, obgleich die Lösung ziemlich concentrirt war, nicht sofort aus. Es bildeten sich vielmehr erst nach einigen Stunden an den Wänden des Glases zu Drusen vereinigte Krystallaggregate, aus mikroskopischen, kurzen, rhombischen Prismen bestehend. Die abfiltrirten und ausgewaschenen Krystalle, die ich jetzt für reine Salicylsäure hielt, wurden noch, um etwa beigemengte Salicylsäure zu entfernen, mit Aether geschüttelt, sodann über SO_4H_2 bis zu constantem Gewicht getrocknet. Bei allen diesen Reinigungen schrumpfte das Präparat so zusammen, dass dessen Menge nur eben für eine volumetrische Stickstoffbestimmung ausreichte. Die Formel der Salicylsäure verlangt 7,18 Proc. N, ich erhielt aber nur 6,25 Proc. N, also fast 1 Proc. weniger von der theoretisch berechneten Menge. Es war daher wünschenswerth, eine grössere Menge der Substanz darzustellen, um durch weitere Analysen Aufklärung über die Zusammensetzung der Substanz zu erhalten. Um die störende Beimengung der Naphtolglykouronsäure zu vermeiden, wurde jetzt menschlicher Harn nach Gebrauch von 25 g Salol verarbeitet. Der Harn wurde vollkommen mit Bleiessig ausgefällt, die Bleiniederschläge gut ausgewaschen, abgepresst und sodann unter Kühlung mit reiner Salzsäure von 1,12 spec. Gewicht zu einem Brei angerührt und mit Aether extrahirt. Nach Abdestilliren des Aethers hinterblieb ein Syrup, in welchem sehr bald die zu Drusen concentrisch gruppirtten Krystalle sich bildeten. Die ausgewaschenen und abgepressten Krystalle wurden zunächst 3mal aus heissem Wasser unter Zusatz von Thierkohle umkrystallisirt, sodann mit Aether gewaschen, um die event. Salicylsäure zu entfernen. Hierbei tritt ein ziemlicher Verlust ein, da der Körper auch in Aether löslich ist. Nach dem Waschen mit Aether wurde der Körper noch einmal aus heissem Wasser umkrystallisirt und über SO_4H_2 bis zu constantem Gewicht getrocknet. Das Präparat hatte jetzt folgende Eigenschaften: Im Wasser ist die Substanz leichter löslich als Salicylsäure. Die Lösung giebt mit Eisenchlorid tief violette Färbung; sie ist leicht löslich in Alkohol, weniger in Aether. Im Capillarröhrchen schmilzt sie bei 163° . Die Substanz konnte bei 100° nicht getrocknet werden, indem sie dabei, unter Auftreten eines widrigen Harn-

geruches, sich zersetzt. Sie ist optisch unwirksam und reducirt nach dem Kochen mit 10 proc. Schwefelsäure Fehling'sche Lösung nicht. Prüfungen auf einen etwaigen Gehalt an Chlor und Schwefel fielen negativ aus. Die Elementaranalysen der im Exsiccator getrockneten Substanz ergaben folgende Zahlen: 0,2444 g gaben 0,5037 g CO₂ und 0,1127 g H₂O oder 56,21 Proc. C und 5,12 Proc. H. 0,2238 g gaben im Zulkowski'schen Apparate über 25 Proc. Kalilauge, 13,6 cem N bei 18,4° T. und 715 mm Bst. oder 6,55 Proc. N. Die Formel der Salicylursäure = C₉H₉NO₄ verlangt 55,38 Proc. C, 4,61 Proc. H und 7,18 Proc. N. Trotz aller Bemühungen, die vermeintliche Salicylursäure rein zu erhalten, ergab doch die Analyse merklich verschiedene Zahlen von der für die Säure berechneten. Es wurde uns daher zweifelhaft, ob die Substanz überhaupt Salicylursäure ist, und wir beschlossen, weitere Quantitäten der Verbindung uns zu verschaffen. Zu dem Zwecke wurde Harn von 2 Patienten der hiesigen Klinik nach Gebrauch von 50 g salicylsaurem Natron mit Bleiessig ausgefällt und auf die wiederholt angegebene Weise verarbeitet. Der Schmelzpunkt der jetzt erhaltenen Substanz war ebenfalls bei 163° und die Elementaranalyse zweier Präparate ergab uns folgende Zahlen: 0,2362 g gaben 0,4893 g CO₂ und 0,1031 g H₂O, oder 56,49 Proc. C und 4,85 Proc. H.

0,2153 g gaben 13 cem N bei 19,6° T. und 722 mm Bst., oder 6,67 Proc. N.

0,2454 g gaben 0,506 g CO₂ und 0,1081 g H₂O, oder 56,23 Proc. C und 4,9 Proc. H.

0,230 g gaben 13,3 cem N bei 13° T. und 711 mm Bst., oder 6,33 Proc. N.

Die Zusammenstellung der analytischen Zahlen ergibt daher für das Product folgende procentische Zusammensetzung:

56,21 Proc. C, 5,12 Proc. H, 6,55 Proc. N.¹⁾

56,49 Proc. C und 56,23 Proc. C, 4,85 Proc. H und 4,9 Proc. H, 6,67 Proc. N und 6,33 Proc. N.²⁾

6,25 Proc. N.³⁾

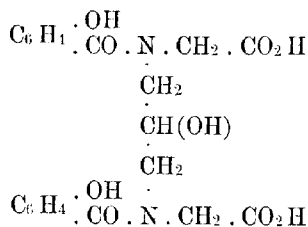
Diese Zahlen entsprechen der Formel C₂₁H₂₂N₂O₉, welche verlangt: 56,50 Proc. C, 4,93 Proc. H und 6,28 Proc. N. Es ist das die verdoppelte Formel der Salicylursäure + C₃H₁O. Die Entstehung

1) Nach Salol.

2) Nach Salicylsäure.

3) Nach salicylsaurem β-Naphtol.

der Substanz im Organismus liesse sich so erklären, dass 2 Moleküle Salicylursäure durch das zweiwerthige Radical der Tartronsäure zusammengekettet werden, wie dies die folgende Structurformel veranschaulicht:



Ob dem von uns aus dem Bleiniederschlage erhaltenen Producte wirklich die Formel $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_9$ zukommt, oder ob die Substanz noch immer nicht absolut reine Salicylursäure ist, bleibt vorläufig eine offene Frage. Für die erste Annahme spricht der constante Schmelzpunkt und die annähernd gleiche procentische Zusammensetzung der Präparate verschiedenen Ursprungs. Es fehlt andererseits der Nachweis der Tartronsäure als Spaltungsproduct der Substanz, sowie Analysen der Salze, und gleiche Fehler bei der Isolirung und Reinigung der Verbindung könnten leicht zu untereinander übereinstimmenden Zahlen führen. Die Schwierigkeit in der Beschaffung grösserer Mengen des Materials und die Verluste beim Reinigen des Rohproductes verhinderten uns, die Frage endgültig zu entscheiden. Es sollen jedoch weitere Untersuchungen hierüber im hiesigen Laboratorium gemacht werden. Auch sollen Versuche mit der Oxy- und der Paraoxybenzoesäure¹⁾, die allem Anscheine nach sich ähnlich wie die Salicylsäure verhalten, ausgeführt werden.

Die früheren Versuche von Nencki²⁾ zeigten, dass die Säureester der Phenole im Darme, und zwar durch den pankreatischen Saft gespalten werden. Es war jedoch möglich, dass diese Spaltung im Organismus auch an anderen Orten geschieht. Wir haben daher das Verhalten des Salols gegen Speichel, Magensaft und auch gegen die Fäulnisbakterien untersucht. Von diesen letzteren ist es ja bekannt, dass sie lösliche Enzyme bilden, Eiweiss peptonisiren und die unlöslichen Kohlehydrate verzuckern. Das Ergebniss dieser Versuche war folgendes: 5 ccm einer 10 proc. alkoholischen Salollösung wurden zu einem Gemisch von 15 ccm menschlichem Speichel und 80 ccm Wasser

1) Vgl. hierüber Maly u. Löbisch, Ber. d. Wien. Akad. LXV. Bd. 2. Abth. 1872. S. 39, sowie Baumann u. Hertel, Zeitschr. f. physiol. Chem. I. Bd. S. 260.

2) Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmakol. XX. Bd. S. 377.

zugesetzt und die Emulsion bei der Bruttemperatur stehen gelassen. Schon nach 5 Stunden färbte sich die durch Thierkohle klar filtrirte Lösung mit Eisenchlorid schwach violett. Da Salol in Wasser unlöslich ist, so wird auch Wasser, mit Salol geschüttelt und filtrirt, durch Eisenchlorid nicht gefärbt. Alkoholische Salollösungen geben dagegen mit Eisenchlorid eine tief braunrothe Färbung. — Nach 24 Stunden färbte sich der filtrirte Speichel stark violett. Die Flüssigkeit roch nach salicylsaurem Aethyl und reagirte neutral. Am dritten Tage war die Eisenchloridreaction noch intensiver, ebenso der gaultheriaöl-ähnliche Geruch. Das Salol war in Oeltropfen am Boden des Gefässes abgesetzt. Die mikroskopische Untersuchung zeigte, dass auf dem Plattenepithel der Mundmucosa zahlreiche Kokkencolonien waren. Ein gleichzeitig aufgestellter Controlversuch ergab, dass nach dreitägigem Stehen der gleichen Salolemulsion, jedoch ohne Speichel, keine Veränderung — weder der Geruch nach salicylsaurem Aethyl, noch die Eisenchloridreaction — eintrat. Dieser Versuch erklärt die von Aerzten constatirte antiseptische und desodorisirende Wirkung der Salolemulsion bei Mund- und Halskrankheiten. Die Saloltheilchen der Emulsion werden in den Falten der Schleimhaut, sowie zwischen den Zähnen abgelagert und dort allmählich in Salicylsäure und Phenol zerlegt.

Aehnlich wie durch den Inhalt der Mundhöhle wird das Salol auch durch Digestion mit der Magenmucosa zerlegt. Frisch abpräparirte Schleimhaut eines Schweinemagens wurde mit 1 Liter 0,6 proc. Kochsalzlösung zu einem Brei angerührt und in 2 gleiche Portionen getheilt. Der einen Hälfte wurde Salzsäure und so viel von der alkoholischen Salollösung zugesetzt, dass sie 0,2 Proc. Säure und 1 Proc. Salol, der anderen so viel, dass sie 0,2 Proc. Säure und 1,5 Proc. Salol enthielt. Beide Kolben liessen wir bei Bruttemperatur stehen. Folgendes war das Resultat:

1 Proc. Salol.

1½ Proc. Salol.

Nach 24 Stunden:

Flüssigkeit stark faulig. Reaction stark sauer. Schwache Rothfärbung in der filtrirten Lösung.

Nicht faulig. Keine Mikroben. Saure Reaction. Starke Violett-färbung mit Eisenchlorid.

Nach 48 Stunden:

Flüssigkeit faulend. Intensive Färbung mit Eisenchlorid. Reaction schwach sauer.

Nicht fauliger Geruch. Reaction sauer. Intensive Färbung mit Eisenchlorid. Geruch nach salicylsaurem Aethyl.

Am 4. Tage gleicher Befund. Am 6. Tage beginnende Fäulniss in der Probe mit 1,5 Proc. Salol, die am 7. Tage intensiver wird.

Dass hier nicht das Pepsin, sondern die Spaltpilze, resp. die zelligen Elemente der Magenmucosa das Salol spalten, geht aus folgendem Versuche hervor: 1 g käufliches Pepsin wurde mit 100 cem 0,2proc. HCl und 1 proc. Salolemulsion bei der Bruttemperatur stehen gelassen. Nach 3tägigem Stehen gab die filtrirte Flüssigkeit mit Eisenchlorid keine Färbung. Durch gleichzeitigen Controlversuch mit dem Pepsinpräparat in 0,2proc. Salzsäure und mit Carmin gefärbtem Fibrin wurde constatirt; dass dieses Pepsin wirksam war, indem das Fibrin rasch gelöst wurde.

Dass es aber Bacterien sind, die das Salol in seine Componenten zerlegen, geht mit Sicherheit aus folgendem Versuche hervor:

Käufliches Serumweiß wurde mit dem 20fachen Gewichte destillirten Wassers bei der Bruttemperatur stehen gelassen. Nach 30 Stunden, als die Masse in starker Fäulniss sich befand, wurde die faulende Flüssigkeit in 2 Kolben vertheilt und von der alkoholischen Salollösung so viel zugesetzt, dass die eine 1 Proc., die andere 2 Proc. Salol enthielt. Nach 24stündigem Stehen ist der stinkende Geruch der Flüssigkeit in beiden Proben ganz verschwunden. Sie rochen nach salicylsaurem Aethyl, enthielten aber noch ziemlich viel bewegliche Bacterien. Mit Eisenchlorid gaben die filtrirten Proben stark violette Färbung. Am folgenden Tage der gleiche Befund. Die Eisenchloridreaction noch viel intensiver, der grösste Theil der noch vorhandenen Spaltpilze unbeweglich.



Es geht aus diesen Versuchen hervor, dass Salol in seiner entwicklungshemmenden Wirkung bedeutend hinter dem Phenol und der Salicylsäure steht. In dem Versuche mit Magensaft ging die Flüssigkeit bei einem Gehalte von 1 Proc. Salol in Fäulniss über; bei einem Gehalte von 1,5 Proc. Salol wurde in der gleichen Flüssigkeit die putride Zersetzung erst am 6. Tage bemerkbar. Die antiseptische Wirkung des Salols tritt erst dann ein, wenn das Salol in seine Componenten gespalten wird. Diese Spaltung bewirkt aber nicht allein der pankreatische Saft, sondern die Spaltpilze selbst, wie dies aus dem zuletzt angeführten Versuche hervorgeht. Je rascher und vollständiger diese Spaltung ist, um so früher hört die Fäulniss auf. Es ist sehr wahrscheinlich, dass die gleiche Spaltung, wie durch die einzelligen Organismen, auch durch Zellen unserer eigenen Gewebe bewirkt wird. Die geringe Menge des Salols, resp. des Phenols und der Salicylsäure, welche genügt, um z. B. bei dem polyarti-

culären Gelenkrheumatismus Heilung zu bewirken, muss jedenfalls darauf beruhen, dass den Zellen unserer Gewebe schon durch einen geringen Gehalt des Mittels ein Vortheil im Kampfe mit den pathogenen Mikroben erwächst.

Dass die Zersetzung des Salols in Salicylsäure und Phenol durch die Mikroben keine vollständige sein kann, ist selbstverständlich. In dem Maasse, als die beiden Spaltungsproducte den Spaltpilzen lästig werden, hört jedenfalls die Enzymbildung und hiermit auch die weitere Verseifung auf. Ist aber ein anderes Enzym, wie z. B. das pankreatische zugegen, so genügt eine viel geringere Menge Salol, um entwicklungshemmend zu wirken. Als Prof. Nencki das Salol darstellte, hat im hiesigen Laboratorium Frau Dr. Simanowski-Schoumoff folgende Versuche damit angestellt. Am 24. Mai 1883 wurden je 20 g klein zerhacktes Pankreas mit 10 g Wasser zu einem Brei angerührt und bei Bruttemperatur stehen gelassen. 5 solchen Proben wurden folgende Salolmengen zugesetzt:

Nr. 1	enthielt	0,2 g	Salol
= 2	=	0,15 =	=
= 3	=	0,1 =	=
= 4	=	0,05 =	=
= 5	=	0,02 =	=

Am folgenden Tage ist der Controlversuch und Nr. 5 stark faulend. Nr. 4 zeigt spärliche Mikroben, schwach fauligen Geruch. Die übrigen Proben zeigen keine Veränderung. Am Abend des gleichen Tages in Nr. 4 ausgesprochene, in Nr. 3 beginnende Fäulniss. Am 2. Tage in Nr. 3 ausgesprochene Fäulniss, in Nr. 2 spärliche, in Nr. 1 ganz vereinzelte Mikroben. Die Proben Nr. 2 und 1 gehen erst am 4. Tage in Fäulniss über. Der Versuch wurde jetzt mit stärkerem Salolgehalt wiederholt, und zwar enthielt auf 20 g Pankreas

Nr. 1	2,0 g	Salol
= 2	1,0 =	=
= 3	0,5 =	=
= 4	0,3 =	=

Nach 12tägigem Stehen bei der Bruttemperatur blieb in allen Proben die Fäulniss aus. Am 13. Tage sind in Nr. 4 vereinzelt Bacterien, desgleichen nach 15 Tagen in Nr. 3; doch ist ihre Menge selbst nach 4 wöchentlichem Stehen, wo der Versuch unterbrochen wurde, nicht vermehrt. In den Proben mit 1 Proc. und 2 Proc. Salol blieb die Fäulniss gänzlich aus. Salol wirkt nur entwicklungshem-

ment und vernichtet nicht die Sporen der Mikroben. Anthraxsporen wurden in einer Emulsion, die 5 Proc. Salol enthielt, nach 24stündigem Stehen nicht zerstört. Die damit geimpfte Maus ist nach 30 Stunden an Milzbrand zu Grunde gegangen.

Aber nicht nur durch Enzyme oder thierische Gewebe wird Salol in seine Componenten gespalten, selbst mit ganz einfach zusammengesetzten organischen Substanzen, namentlich bei der Bruttemperatur, findet doppelte Umsetzung statt. Lässt man Salol in Aethylalkohol, oder noch besser mit Methylalkohol bei der Bruttemperatur stehen, so entsteht salicylsaures Methyl und Salol wird frei. Interessant ist folgende, von Dr. Tavel gemachte Beobachtung: Sterilisirte Agar-Agarlösung wurde mit Milzbrand aus der Milz einer Maus geimpft und mit pulverigem Salol bestreut. Nach 10tägigem Stehen wurde von hier aus eine andere Maus geimpft, welche auch an Milzbrand verendete. Das pulverige Salol hat also hier die Entwicklung des Milzbrandes nicht gehindert. Als aber in einem anderen Versuche sterilisirtes Agar-Agar durch gelindes Erwärmen verflüssigt, sodann mit Milzbrandbacillen geimpft und jetzt mit Salol bestreut wurde, wurden die Milzbrandbacillen abgetödtet und das Agar-Agar blieb steril. Prüft man jetzt zur Controle Agar-Agarlösung, die verflüssigt und mit Salolpulver versetzt war, so zeigt die schon nach kurzer Zeit klar filtrirte Lösung mit Eisenchlorid starke Salicylsäurereaction. Die Agar-Agarlösung in flüssigem Zustande spaltet also schon nach kurzer Zeit das Salol in seine Componenten.

Ausser den beiden Naphtolestern habe ich noch das salicylsaure Thymol, das salicylsaure α -Dioxynaphtalin = $C_{10}H_6 \cdot \begin{matrix} O \cdot CO \cdot C_6H_4 \cdot OH \\ O \cdot CO \cdot C_6H_4 \cdot OH \end{matrix}$ und das salicylsaure Hydrochinon = $C_6H_4 \cdot \begin{matrix} O \cdot CO \cdot C_6H_4 \cdot OH \\ O \cdot CO \cdot C_6H_4 \cdot OH \end{matrix}$ mittelst Phosphoroxchlorid dargestellt. Die beiden letzten Ester werden am besten aus Eisessig umkrystallisirt. Nach innerlichem Gebrauch dieser Substanzen färbt sich der Harn mit Eisenchlorid violett, welche Reaction also auf ihre Spaltung im Organismus in Salicylsäure und das respective Phenol hindeutet. Genauere Bestimmungen hierüber habe ich jedoch nicht ausgeführt. Auch das kohlen saure Phenol = $CO \cdot \begin{matrix} O \cdot C_6H_5 \\ O \cdot C_6H_5 \end{matrix}$ wird im Darne zerlegt. Ein gesunder junger Mann, jedoch von etwas schwächlicher Constitution nahm 1,8 g dieser fast geschmacklosen Substanz an einem Tage in 2 Dosen zu sich. Er klagte hierauf über Meteorismus, lästige Blähungen, Appetitlosigkeit und Harndrang. Der gelassene Harn färbte sich an der Luft rasch

dunkel. Alle die Beschwerden verschwanden jedoch schon am nächsten Tage. Ich bestimmte in der 24 stündigen Harnmenge = 1370 cem den Phenolgehalt und fand in 100 cem des Harns 0,279 g Tribromphenol = 0,0792 g Phenol, was auf $\text{CO}_3(\text{C}_6\text{H}_5)_2$ berechnet 1,23 g in 1370 cem entspricht.

10409

1000
1000

18418