

479. W. Hempel: Beitrag zur Beurtheilung der Salicylsäurefrage.

(Eingegangen am 20. November.)

In Nr. 14 des 12. Bandes des Journals für praktische Chemie hat eine vergleichende Arbeit des Hrn. Fleck über die antiseptische Wirkung der Benzoësäure, Carbonsäure, Salicylsäure und Zimmtsäure durch Hrn. Kolbe eine im wissenschaftlichen Verkehr ganz ungewöhnliche Art der Widerlegung erfahren. Verfasser dieses hofft im Nachfolgenden einige zur Beurtheilung dieser schwierigen Frage wichtige Thatsachen zu geben¹⁾.

Fleck's Versuche, die wie der Titel seiner Broschüre angiebt, alle im Hinblick auf die praktische Anwendbarkeit gemacht worden sind, hatten ergeben, dass die gährungshemmende Kraft der Salicylsäure so lange man pro Liter Bierwürze nicht mehr als 0.8 Gramm Säure anwendet, bei weitem hinter der der Zimmtsäure und Benzoësäure zurücksteht, und dass, wie in Versuchsreihe VI. auf Seite 48 seiner Schrift nachgewiesen ist, die Bierwürze die antiseptisch wirkenden Säuren zum Theil zu binden vermöge und sie so ihrer gährungshemmenden Kraft beraube. Kolbe hat gezeigt, dass, wenn man mehr als 1 Grm. Säure pro Liter Würze anwendet, die Salicylsäure stärker gährungshemmend wirkt. Ein Theil der Fleck'schen Versuche hat so durch Kolbe's Beobachtung eine sehr wesentliche Ergänzung erhalten, andere Versuche, vor allen die mit faulender Fleischflüssigkeit, haben in keiner Beziehung ihre Gültigkeit verloren.

Was die theoretische Frage der Wirkung der fraglichen aromatischen Säuren anbelangt, so haben die klinischen Beobachtungen ergeben, wie schwierig es ist, die aus chemischen Laboratoriumsexperimenten erhaltenen Resultate auf die Schlussfolgerungen in Bezug auf den thierischen Organismus zu übertragen, so hat sich gezeigt, dass beim innern Gebrauch der Salicylsäure die von Kolbe angerathene gleichzeitige Verabreichung einer passenden Säure nicht nöthig ist, dass man nicht einmal die freie Säure zu geben braucht, da die salicylsauren Salze nahezu dieselbe günstige Wirkung haben. In Anbetracht dieser Thatsachen müssen die entscheidenden Beobachtungen über die Gesamtwirkung der fraglichen Säuren lediglich den physiologischen Instituten überlassen werden, denen die Fleck'schen Versuche einen brauchbaren Anhalt bieten werden. Der unbestreitbare Werth der Fleck'schen Schrift liegt ja in seinen nahezu 100 quantitativen Versuchen, deren Thatsächliches bis auf den Hefetödtungsversuch, der eine physiologische Frage behandelt, in ihrer vollen Gültigkeit nicht

¹⁾ Man vergleiche ferner die Abhandlung der HH. Feser u. Friedberger im „Archiv für wissenschaftliche und praktische Thierheilkunde 1875, Heft 6“, worin dieselben nachweisen, dass nicht Kolbe, sondern sie die Bindung der Salicylsäure durch das Blut zuerst nachgewiesen haben.

angefochten werden kann. Was ferner die Fleck'schen Schlussfolgerungen in Bezug auf die Gährungsgewerbe anbetrifft, so hält Fleck die Anwendung der antiseptischen Säuren auf Grund der Kolbe'schen, Neubauer'schen und seiner Versuche überhaupt für unzulässig, da die Erwartungen, dass minimale Quantitäten der Säuren zu wirken vermöchten, durch keinen der Versuche unterstützt sind, so wird die Praxis entscheiden, ob die Empfehlungen für Bier- und Weinconservirung gerechtfertigt waren.

Nimmt man aus Kolbe's Journal und der Fleck'schen Schrift das Thatsächliche der Versuche, so findet man, dass Fleck Dinge klar legte, die für die mannigfaltigen Anwendungen, für welche die Salicylsäure empfohlen ist, die grösste Bedeutung haben, und die aus Kolbe's und Neubauer's Versuchen allein nicht zu folgern sind.

Diese wenigen Worte in Bezug auf die allgemeine Sachlage, da die zur Widerlegung der Fleck'schen Broschüre erschienenen Abhandlungen dieselbe keineswegs wiederlegen, sondern nur weniger wesentliche theoretische Spekulationen, die Fleck seinen Versuchen unterzulegen zu müssen glaubte, behandeln.

Da der einfache quantitative Versuch mit einer Albuminlösung lehrt, dass die antiseptischen Säuren schon bei mässiger Temperatur, bei 30—40°, auf das Albumin wirken, indem sich reichliche Mengen von coagulirtem Eiweiss abscheiden und die nähere Kenntniss dieser Wirkung für die Anwendung derselben von der grössten Bedeutung ist, so habe ich durch folgende Versuche zu entscheiden gesucht, ob die fraglichen Körper mit dem Eiweiss eine chemische Verbindung eingehen.

Da die Salicylsäure, Benzoësäure, Zimmtsäure etc. sehr krystallisationsfähig sind und daher einen hohen Diffusionscoëfficienten haben, hingegen das Albumin und die ihm verwandten stickstoffhaltigen Körper entweder gar nicht oder doch nur sehr schwer diffundiren, so musste, wenn eine Verbindung zwischen den Säuren und den Proteinkörpern besteht, sich dies durch Diffusionsversuche entscheiden lassen. Existirte die fragliche Verbindung, so müssen entweder die stickstoffhaltigen Körper in derselben leichter diffundiren, oder im Falle dieselbe undiffundirbar war, die antiseptischen Säuren an ihrer Diffundirbarkeit einbüssen, zum Theil undiffundirbar werden.

Bei den folgenden Diffusionsversuchen dienten zur Aufnahme der zu untersuchenden Flüssigkeiten Glasringe von ganz gleicher Grösse (erhalten durch Absprengung des oberen Theiles der grössten Sorte Bechergläser), über welche mittelst zweier Gummibänder ein Stück Pergamentpapier so gespannt wurde, dass die eine Fläche des Ringes geschlossen und seine äussern Seiten völlig mit Papier umgeben waren. Da die Gummibänder das Papier fest an das Glas pressten, so waren auf diese Weise bei den verschiedenen Ringen die diffundirenden

Flächen sehr annähernd gleich gross. Die Diffusionsgefässe wurden in destillirtes Wasser so eingehängt, dass die Oberflächen der durch das Papier getrennten Flüssigkeit möglichst in einem Niveau standen, so dass also nur minimale Druckdifferenzen die Diffusionserscheinungen beeinträchtigen konnten. Vor und nach den Versuchen wurden die Diffusionsgefässe auf ihre Dichtigkeit geprüft. Die verwendeten Bierwürzen¹⁾ und Albuminlösungen waren entweder ganz frisch bereitet oder kurz vor dem Versuche ausgekocht und filtrirt, so dass sie weder Gährungs- noch Fäulnisserscheinungen zeigten.

Nach Unterbrechung der Diffusion durch Herausheben der Glasringe wurde das vorgelegte destillirte Wasser in kleinen Hofmeister'schen Glasschälchen mit papierdünnen Wandungen eingedampft, bei 100⁰ getrocknet und gewogen, hierauf sammt dem Schälchen in einem Mörser mit Natronkalk verrieben, und nach der Varrentrapp-Will'schen Methode durch Verbrennung und Auffangen des gebildeten Ammoniaks in titrirter Schwefelsäure der Stickstoff bestimmt.

Von der Reinheit des Natronkalks hatte man sich durch eine Verbrennung von Zucker überzeugt, wobei unbestimmbare Spuren von Ammoniak auftraten.

1. Versuch. In 100 CC. einer durch Diffusion bis zum Verschwinden der Chlorreaction gereinigten, filtrirten Hühnereiweisslösung (sie ergab pro 100 CC. 1.524 Gr. bei 100⁰ im Wasserstoffstrom getrocknetes Eiweiss, welches 2.1 pCt. Asche enthielt, war frei von Ammoniak und reagirte neutral) wurde 0.3 Gr. Salicylsäure kalt gelöst und in dem oben beschriebenen Apparate mit 500 CC. Wasser 24 Stunden diffundiren gelassen. Nach dieser Zeit wurde mit dem vorgelegten Wasser auf die angegebene Weise die Stickstoffbestimmung ausgeführt, welche ein völlig negatives Resultat ergab, es war keine Spur Eiweiss diffundirt. Eine Verbindung der Salicylsäure mit durch Diffusion gereinigtem Hühnereiweiss musste also, wenn sie überhaupt existirte, undiffundirbar sein.

2. Versuch. In 100 CC. der bei Versuch 1. verwendeten Eiweisslösung wurde 0.4 Gr. Salicylsäure kalt gelöst und in einem dem oben beschriebenen Diffusionsgefässe ganz gleich construirten grösseren Apparate (der Ringdurchmesser betrug 20 Cm.) gegen je 1000 CC. Wasser diffundiren gelassen und alle 12 Stunden das vorgelegte Wasser erneuert.

Nach 9 Diffusionen war in einem zur Controlle gleichzeitig gemachten Diffusionsversuche mit einer 0.4 Gr. Salicylsäure enthaltenden wässrigen Lösung mit Eisenchlorid keine Salicylsäure mehr nachweis-

¹⁾ Die Würze stammte, wie die zu Fleck's Versuchen verwendete, aus der Feldschlösschenbrauerei und enthielt 17.1 pCt. Extrakt und, alle freie Säure als Milchsäure berechnet, 0.155 pCt. freie Milchsäure.

bar. In dem Eiweissversuch zeigte das zuletzt vorgelegte Wasser mit Eisenchlorid eine ganz schwache, nur in dickèr Schicht wahrnehmbare Violettfärbung. Die Eiweisslösung ergab mit Salzsäure zersetzt, mit Aether ausgeschüttelt (der Aether verdunstet), nur noch Spuren von Salicylsäure.

Aus diesen Versuchen glaube ich schliessen zu können, dass die Salicylsäure mit Hühnereiweiss keine chemische Verbindung einzugehen vermag.

3. Versuch. In 100 CC. Bierwürze wurde 0.1 Gr. Salicylsäure kalt gelöst und in dem Apparat von Versuch 2 gegen je 1000 CC. Wasser diffundiren gelassen und alle 12 Stunden das vorgelegte Wasser erneuert. Nach 9 Diffusionen war im Diffusum Salicylsäure mit Eisenchlorid nicht mehr nachweisbar. Die Untersuchung der rückständigen Bierwürze liess jedoch ebenfalls keine Salicylsäure mehr erkennen.

Eine Verbindung der Salicylsäure mit den in der Bierwürze enthaltenen Proteinsubstanzen musste also, wenn sie überhaupt existirte, diffundirbar sein.

4. Versuch. a) In 100 CC. Bierwürze wurde 0.1 Gr. Salicylsäure kalt gelöst und mit 500 CC. Wasser in dem anfangs beschriebenen Apparate 4 Stunden lang diffundiren gelassen. Das vorgelegte Wasser ergab nach dieser Zeit
0.681 Gr. bei 100° getrockneten Verdampfungsrückstand, enthaltend
0.0072 Gr. Stickstoff.

b) In 100 CC. Würze wurde 0.1 Gr. Benzoësäure kalt gelöst und mit 500 CC. Wasser 4 Stunden diffundiren gelassen.

Es ergab sich
0.681 Gr. bei 100° getrockneter Verdampfungsrückstand, enthaltend
0.0073 Gr. Stickstoff.

c) 100 CC. Würze wurden mit 500 CC. Wasser 4 Stunden diffundiren gelassen.

Es ergab sich
0.659 Gr. bei 100° getrocknet, enthaltend
0.0078 Gr. Stickstoff.

5. Versuch. a) In 100 CC. Würze wurde 0.1 Gr. Benzoësäure gelöst und gegen 500 CC. Wasser 6 Stunden lang diffundiren gelassen.

Es war diffundirt
0.0195 Gr. Stickstoff.

b) 100 CC. Würze wurde gegen 500 CC. Wasser 6 Stunden lang diffundiren gelassen.

Es ergab sich:
0:0197 Grm. Stickstoff.

Bei den Versuchen mit Salicylsäure missglückte die Stickstoffbestimmung.

Aus allen Versuchen zusammen glaube ich schliessen zu dürfen, dass die Salicylsäure keine chemische Verbindung mit den Albuminkörpern einzugehen vermag.

Da Ernst von Meyer und Kolbe S. 182 am Eingang erwähnten Artikels zeigen, dass die Bierwürze die Salicylsäure so gut zu binden vermöge, dass sie erst nach Zusatz von Salzsäure mit Aether leicht ausschüttelbar ist, so habe ich, nachdem die obigen Versuche die Gewissheit gegeben hatten, dass ein spezifisches, vielleicht nur den antiseptischen Säuren zukommendes Bindungsvermögen mit den Proteinsubstanzen der Würze nicht existirt und darum kein Grund vorhanden war, warum nicht die Milchsäure als stärkere, im Wasser leicht lösliche Säure beim Schütteln mit Aether die Salicylsäure austreiben solle, den bezüglichen Versuch in etwas abgeänderter Weise wiederholt und folgende Resultate erhalten:

6. Versuch. In 250 CC. Wasser wurden 8 Grm. phosphorsaures Natron $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 12\text{H}_2\text{O}$ und 3.1 Grm. Salicylsäure gelöst und dann dreimal mit stets neuen Mengen Aether ausgeschüttelt, der Aether verdunstet, die Salicylsäure gewogen. Man erhielt:

0.542 Grm. Salicylsäure.

Hierauf wurden 2 Grm. Milchsäure zugesetzt und wieder ausgeschüttelt, man erhielt:

$\frac{2.647 \text{ Grm.}}{3.189 \text{ Grm.}}$ Salicylsäure.

Die Salicylsäure war bei der hier angeführten Wägung noch wasserhaltig, das Trocknen missglückte durch einen Unfall.

7. Versuch. In 250 CC. Wasser wurden 8 Grm. phosphorsaures Natron und 3.1 Grm. Benzoëssäure gelöst, hierauf mit Aether ausgeschüttelt. Nach 3 Ausschüttelungen erhielt man:

1.453 Grm. Benzoëssäure,

nach Zusatz von 2 Grm. Milchsäure

$\frac{1.640 \text{ Grm.}}{3.093 \text{ Grm.}}$ Benzoëssäure.

Bei den folgenden Ausschüttelungsversuchen mit Salicylsäure und Würze wurde der Aether abdestillirt, der Rest verdunstet und die Salicylsäure über Schwefelsäure getrocknet. Der verwendete Aether war vorher mit Aetzkalk im stehenden Kühler gekocht und abdestillirt worden.

Die gewonnene Salicylsäure war immer nur sehr schwach gelblich gefärbt.

In den letzten Ausschüttelungen wurde, da sie relativ grosse Mengen von aus der Würze stammenden, in Aether löslichen Extractivstoffen enthielten, die darin enthaltene Salicylsäure colorimetrisch

bestimmt, nachdem man sich vorher überzeugt hatte, dass die geringen Quantitäten von Extractivstoffen, mit welchen die Salicylsäure verunreinigt war, keinen Einfluss auf die Genauigkeit der colorimetrischen Bestimmung habe. Es wurden geringe und gleiche Mengen von Eisenchlorid zur Hervorrufung der violetten Farbe benützt und nach den bei colorimetrischen Bestimmungen allgemein nöthigen Vorsichtsmaassregeln verfahren.

8. Versuch. In 100 CC. Würze wurden 0.2 Grm. Salicylsäure heiss gelöst und nach dem Erkalten mit der gleichen Menge Aether ausgeschüttelt.

Die ersten 5 Ausschüttelungen ergaben:

0.219 Grm. mit Aether ausschüttelbare Masse.

Die folgenden 5 Ausschüttelungen:

0.0125 Grm. mit Aether ausschüttelbare Masse

enthaltend

0.0035 Grm. Salicylsäure.

Hierauf wurde 5 CC. 30procentiger Salzsäure zugesetzt und 3 Mal mit Aether ausgeschüttelt. Es ergab sich:

0.022 Grm. Gesamtmasse

enthaltend

0.0025 Grm. Salicylsäure.

9. Versuch. In 100 CC. Würze wurden 0.2 Grm. Salicylsäure heiss gelöst und nach 12 Stunden nach dem Erkalten mit je 500 CC. Aether ausgeschüttelt.

Die ersten drei Ausschüttelungen ergaben:

0.201 Grm. in Aether lösliche Masse.

Die folgenden zwei:

0.017 Grm. in Aether lösliche Masse,

enthaltend

0.008 Grm. Salicylsäure.

Hierauf wurde mit 2 CC. 30procentiger Salzsäure angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt.

Es ergab sich:

0.018 Grm. in Aether lösliche Masse

enthaltend

0.004 Grm. Salicylsäure.

Um schliesslich ein Bild über die beim Abdestilliren des Aethers durch die Flüchtigkeit der Salicylsäure entstehenden Verluste zu erhalten, wurde 0.2 Grm. Salicylsäure in 500 CC. Aether gelöst, der Aether stark kochend abdestillirt, der Rückstand in ein tarirtes Schälchen gespült, getrocknet und gewogen. Man erhielt:

0.196 Grm. Salicylsäure.

Der Versuchsfehler betrug also 2 pCt.

Dass Kolbe und Meyer beim Ausschütteln mit Aether ganz andere Resultate erhalten haben, erklärt sich folgendermaassen.

Bierwürze und Aether scheiden sich nicht, wie Wasser und Aether, in zwei Schichten, sondern in drei. Man unterscheidet eine Schicht völlig klaren Aethers, eine von Aether und Eiweiss erfüllte Schicht und die Würze. Es lässt sich der in der Eiweisschicht enthaltene Aether nicht von dem Eiweiss und der Würze trennen, so dass eine sehr beträchtliche Menge aus der Würze durch das Schütteln in den Aether übergegangene Salicylsäure immer zurückbleibt. Der Fall gleicht dem fehlerhaften Auswaschen eines Niederschlages, wo man nicht abwartet, bis das Waschwasser abgelaufen ist, sondern durch Aufgiessen von frischem Wasser das Auswaschen unnötig lang ausdehnt.

Es wurde, dem Kolbe'schen Versuch entsprechend, in 250 CC. Würze 2.5 Grm. Salicylsäure heiss gelöst und nach dem Erkalten mit 750 CC. Aether ausgeschüttelt, in einem sehr weiten Scheidetrichter 24 Stunden lang absetzen gelassen, der klare Aether so weit irgend möglich getrennt, das Volum der Würze und der eiweisshaltigen Aetherschicht gemessen.

Es wurde erhalten:

675 CC. Aether

325 CC. Würze, Aether und Eiweiss.

Hiernach musste beim Kolbe'schen Versuch bei jeder Ausschüttelung 75 CC. Aether in der Würze bleiben. Da nun Kolbe angiebt, dass er mit dem halben Volum der Würze an frischem Aether ausschüttelte, also mit 125 CC., so musste die in der Würze enthaltene Salicylsäure durch das Ausschütteln nach folgender Gleichung sich vermindern.

$$125 : 75 = 2.5 \text{ Grm. } x.$$

Die Würze enthielt also:

	nach der	1. Ausschüttelung	1.5	Grm. Salicylsäure		
-	-	2.	-	0.9	-	-
-	-	3.	-	0.54	-	-
-	-	4.	-	0.324	-	-
-	-	5.	-	0.1944	-	-

Kolbe fand 0.180 Grm.

Diese Berechnung klärt den Kolbe'schen Versuch völlig auf und führt seine Resultate auf einen analytischen Fehler zurück. Die beim Kolbe'schen Versuch fehlenden 90 Milligramm Salicylsäure = 36 pCt. der Gesamtmenge, entsprechen einem Fehler, der, wie oben gezeigt, durchaus nicht in der Methode liegt, die im Gegentheil, da die Würze geringe Mengen in Aether lösliche Bestandtheile enthält, etwas zu hohe Werthe liefern muss.

Die Salicylsäure lässt sich aus Bierwürze mit Aether leicht völlig ausschütteln, wenn man nur, weil das Eiweiss eine scharfe Trennung des Aethers von der Würze verhindert, genug Aether anwendet und so den Verdünnungscoefficienten recht gross macht.

Trotzdem findet, wie Fleck zuerst nachgewiesen hat, und wie Kolbe's Versuche mit Salzsäure ebenfalls beweisen, in der Bierwürze, natürlich ebenso in Most und allen anderen Medien, die Basen und Säuren enthalten, eine theilweise Bindung der antiseptischen Säuren statt, was einfach auf das Princip der Massenwirkung zurückzuführen ist, wobei aber neben den phosphorsauren Salzen alle Salze betheiligte sein müssen, deren Wirkung natürlich durch ein Mehr oder Minder irgend welcher Säure wesentlich beeinflusst wird.

Die von Kolbe gefundenen Zahlen über das Bindungsvermögen der Würze stehen auf einem durchaus unhaltbaren Boden und die in demselben Artikel enthaltenen nur beleidigenden, nicht beweisenden Worte über schülerhafte Versuche und Halbchemiker sind hiermit durch den einfachen Nachweis eines analytischen Fehlers beantwortet.

Dresden, den 19. December 1875.

480. W. Michler: Vorläufige Mittheilung über vierfach substituirte Harnstoffe.

(Eingegangen am 19. December; verlesen in der Sitzung von Hrn. Oppenheim.)

Während bekanntlich ein-, zwei- und dreifach substituirte Harnstoffe leicht darstellbar sind, sind alle Versuche zur Gewinnung vierfach substituirter Harnstoffe bis jetzt erfolglos geblieben, so dass Zweifel entstanden sind, ob solche Körper überhaupt existiren können. Das Misslingen der zu ihrer Synthese angewendeten Versuche liegt indess wie es scheint darin, dass Reactionen angewandt wurden, bei denen eine Wanderung eines Alkoholradikals von einem Stickstoffatom an ein anderes hätte stattfinden müssen; dies hätte der Fall sein müssen bei den Versuchen Tetraäthylharnstoff aus cyansaurem Tetraäthylammonium [Hofmann¹⁾, Brüning²⁾] oder aus Cyansäureäther und Triäthylamin (Wurtz³⁾) zu gewinnen, da sowohl Tetraäthylammonium als Triäthylamin mehr als zwei Aethylgruppen an demselben Stickstoffatom enthalten, während doch der Tetraäthylharnstoff an jedem Stickstoffatom nur zwei Aethylgruppen führt.

Auf Rath von Hrn. Professor V. Meyer habe ich versucht, das Ziel durch Einwirkung von Chlorkohlenoxyd auf Diäthylamin zu

¹⁾ Annal. d. Chem. 78, 274.

²⁾ Annal. d. Chem. 104, 200.

³⁾ Annal. d. Chem. 80, 350.