

Ueber die Ausscheidung des Antipyrins aus dem thierischen Organismus.

Von

D. Lawrow.

Aus dem Institut für medicin. Chemie und experimentelle Pharmakologie
zu Königsberg i. Pr.

Der Redaction zugegangen am 5. Januar 1901.

Welche Veränderungen das Antipyrin im thierischen Organismus erleidet, in welcher Form resp. in welcher Verbindung dasselbe, nach Einführung in den thierischen Organismus, denselben verlässt, sind Fragen, welche nach den Litteraturangaben bisher noch wenig bearbeitet worden sind.

Nach Fr. Müller¹⁾ lässt sich aus dem Harn, kranker Menschen, nach Eingabe von Antipyrin, dasselbe in unveränderter Form nur in sehr unbedeutenden Mengen darstellen. Ausserdem steigt nach diesem Autor nach beträchtlichen Antipyringaben die Menge der gebundenen Schwefelsäure im Harn von Menschen (Kranken) bis zur Hälfte der gesammten.

Nach Umbach²⁾ wird beim Menschen durch das Antipyrin die Aetherschwefelsäure nur wenig vermehrt: dies aber ist beim Hunde in deutlicher Weise der Fall.

Nach A. Gahn³⁾ zeigte der Antipyrinharn der Menschen (Kranker) nie eine Verfärbung. Wiederholt vorgenommene Untersuchungen ergaben, dass derselbe nach grösseren Dosen die Polarisationsebene nicht drehte und mit Säuren gekocht

¹⁾ Centrallbl. für klinische Medicin, 1884, Nr. 36.

²⁾ Arch. für experiment. Pathol. und Pharmakol., 1885, VII, S. 161—168.

³⁾ Berlin. klin. Wochenschr., 1884, Nr. 36.

keine reducirende Substanz gab. Er enthielt also, nach diesem Autor, keine gepaarte Glycuronsäure. Das Verhältniss der anorganischen Sulfate zur Aetherschwefelsäure betrug in einem Versuche nach Darreichung von 5,0 g 19 : 1, bei einem zweiten nach 4,0 g 12 : 1, war also dasselbe, wie in der Norm.

In Anbetracht des Interesses, welches das Schicksal des Antipyrins, einer verhältnissmässig complicirten Verbindung, im thierischen Organismus darbietet, sowie in Anbetracht der geringen Zahl und der ungenügenden Resultate der bisherigen Bearbeitung dieser Frage wurde die vorliegende Untersuchung vorgenommen.

Für die anfänglichen Versuche wurde ein junger augenscheinlich gesunder Hund gewählt: das Gewicht desselben betrug 35,5 kg: er erhielt Antipyrin von 4 g bis 10 g pro die und zwar in Gaben von 1,5 g bis 3,0 g. Im Verlaufe zweier Fütterungsperioden, von denen jede 2—2½ Wochen dauerte, wurden 200,0 g Antipyrin verfüttert. Die zweite Periode wurde 2 Wochen nach Ablauf der ersten angefangen. Als Nahrung diente dem Hunde Pferdefleisch und zwar ungefähr 1 kg pro die. An Wasser erhielt das Thier 1 bis 1,5 Liter. Während der zweiten Hälfte einer jeden Fütterungsperiode verminderte sich der Appetit des Thieres beträchtlich: der Hund erschien träge.

Im Verlauf des gesammten Versuches sank sein Gewicht um 2,3 kg. Sofort nach Beginn der Antipyrineingaben wies der Harn des Thieres folgende zwei besonders bemerkenswerthe Eigenschaften auf: mit einer wässerigen Lösung von Eisenchlorid gab er Tokayerfarbe und drehte die Ebene des polarisirten Lichts nach links und zwar von 0,15 bis 0,5° ($d = 1$ dm), je nach der Menge der vom Thiere pro die eingenommenen Antipyrins, sowie je nach der Menge des pro die ausgeschiedenen Harns. Die Linksdrehung ging beim Kochen mit 2—5% iger Salzsäure oder Schwefelsäure in eine Rechtsdrehung über.

Manchmal gab der Harn die Trommer'sche Zuckerprobe, andere Male nicht: der mit 2—5% iger Salz- oder Schwefelsäure gekochte Harn ergab stets ein positives Resultat der

Probe. Zum Ende einer Versuchsperiode trat im Harn des Hundes Eiweiss in unbedeutenden Mengen auf, doch fanden sich im Sediment keine Cylinder.

Der Harn des Hundes wurde folgendermaassen mit Eisenchlorid geprüft: zu dem in der Regel alkalischen Harn wurde eine Lösung von Eisenchlorid so lange allmählich hinzugesetzt, bis sich ein gelbgefärbter Niederschlag bildet. Das Gemisch wurde filtrirt und zum Filtrat das Reagens bis zum Maximum der Färbung zugefügt. Gewöhnlich nahm die letztere beim Stehen nach einer Stunde etwas an Intensität zu.

Es erwies sich ferner, dass im Harn des Hundes Antipyrin als solches nicht enthalten war, oder dasselbe nur in sehr unbedeutenden Mengen nachgewiesen werden konnte. Zwecks Darstellung des Antipyrins aus dem Harn des Hundes wurde folgendermaassen verfahren: eine Portion Harn, welche 5—7 g dem Thiere eingeführten Antipyrins entsprach, wurde bei 55—65° C. eingeeengt, mit Salzsäure angesäuert und in einem Extractionsapparat so lange mit Chloroform extrahirt, als noch bei der Extraction irgend etwas von der Substanz überging. Das Chloroformextract wurde bis zur Trockene eingedampft, wobei eine harzartige, intensiv braunroth gefärbte Masse nachblieb, welche sich ausser in Chloroform leicht in heissem Aether, in heissem Alkohol und in Alkalien löste. Diese Masse wurde so lange mit heissem Wasser extrahirt, als noch etwas ins Wasser überging. Die Wasserextracte wurden vereinigt und nach Zusatz von Thierkohle bei 60—65° auf 25—30 ccm. eingeeengt. Die erhaltene farblose Lösung wurde mit Eisenchlorid, Millon's Reagens, $\text{KNO}_2 + \text{H}_2\text{SO}_4$, Phosphorwolframsäure und anderen geprüft. Zwei derartige Versuche ergaben, dass die endgültige, auf 25—30 ccm. eingeeengte wässrige Lösung mit den erwähnten Reagentien weit schwächere Farb- und Niederschlagsreactionen gab, als eine 0.5%ige wässrige Lösung von Antipyrin.

Die fast vollkommene Abwesenheit des Antipyrins als solchen im Harn, sowie die Linksdrehung des letzteren liessen vermuthen, dass das Antipyrin, zum mindesten theilweise, entweder als solches oder aber in veränderter Gestalt, jedoch in

Verbindung mit Glycuronsäure, den Organismus des Hundes verlässt.

Versuche erwiesen, dass diese gepaarte Glycuronsäure zum grössten Theil durch ein Aetheralkoholgemisch, durch Bleiessig und durch Aetzbaryt, besonders in Gegenwart von Alkohol, aus dem Harn gefällt wird.

Der folgende Versuch zeigt die Fällbarkeit der besprochenen Säure durch Alkohol und Aether: 500 ccm. Antipyrinharn, mit einem Drehungsvermögen von $0,20^{\circ}$, wurden auf einem Wasserbade bei $55-60^{\circ}$ C. auf 55 ccm. eingeeengt. Die erhaltene Lösung wurde mit 220 ccm. 95 $\%$ igem Alkohol und 220 ccm. Aether vermengt. Das Gemisch gab nach 24stündigem Stehen im Eisschrank einen stark gefärbten, klebrigen, theilweise krystallinischen Niederschlag. Nachdem die wässrige Alkoholätherlösung vom Niederschlage abgegossen worden war, wurde der letztere in Wasser aufgelöst: die wässrige Lösung wurde durch Thierkohle entfärbt und auf 50 ccm. eingeeengt. Die erhaltene Lösung wies Linksdrehung auf und zwar $-1,61^{\circ}$, bei $l = 1$ dm. Auf die genannte Weise wurde somit ca. 80 $\%$ der gepaarten Glycuronsäure gefällt. Beim weiteren Hinzufügen von 110 ccm. Aether zu der abgegossenen wässrigen Alkoholätherlösung entstand ein krystallinischer Niederschlag, welcher bedeutende Mengen Harnstoff enthielt. Der von der Lösung abgeschiedene Niederschlag wurde in Wasser aufgelöst, die Lösung durch Thierkohle entfärbt und auf 50 ccm. eingeeengt. Sie ergab eine Drehung der Polarisationssebene von $-0,32^{\circ}$ (bei $l = 1$ dm). Ein bedeutender Theil der gepaarten Glycuronsäure kann somit aus dem Harn durch Alkohol und Aether gefällt werden.

Es erwies sich fernerhin, dass die Salze dieser gepaarten Säure beim Eindampfen auf dem kochenden Wasserbade verhältnissmässig leicht zersetzt werden: 87 ccm. der wässrigen Lösung des Niederschlags, welcher bei der Fällung des eingeeengten Harns mit Alkohol erhalten worden war und eine Linksdrehung von $0,58^{\circ}$ (bei $l = 1$ dm) aufwies, wurde auf dem kochenden Wasserbade auf 6—7 ccm. eingeeengt, wobei ein dunkelbrauner Niederschlag entstand. Die erhaltene Lösung

wurde mit Wasser bis auf 87 ccm. verdünnt, mit Thierkohle vermischt und filtrirt: das Filtrat ergab eine Linksdrehung von $0,42^{\circ}$ (bei $l = 1$ dm.).

Die besprochene gepaarte Glycuronsäure wird aus dem mit Schwefelsäure schwach angesäuerten Harn durch ein Gemisch von Alkohol und Aether extrahirt, wie es der folgende Versuch zeigt. Zu 60 ccm. Antipyrinharns, welcher eine Linksdrehung von $-0,42^{\circ}$ zeigte, wurde nach Ansäuerung desselben mit Schwefelsäure ein Gemisch von Alkohol und Aether, bestehend aus einem Volumen 95%igen Alkohols und zwei Volumen Aether so lange zugesetzt, bis das neue Gemisch homogen wurde, so dass sich beim Stehen keine wässerige Schicht absetzte. Zu diesem Gemisch wurde nun soviel Aether hinzugefügt, dass sich beim Schütteln desselben eine wässerige, ungefähr 30 ccm. betragende Schicht bildete. Die Aetheralkohollösung wurde abgeschieden, der Aether und der Alkohol bei $45-55^{\circ}$ entfernt: die resultirende wässerige auf 15 ccm. eingedampfte Lösung wies eine Drehung von $-1,37^{\circ}$ auf. Bei dieser Probe wurde somit durch das Aetheralkoholgemisch ungefähr 80% der gepaarten Glycuronsäure extrahirt.

Zwecks Darstellung der gepaarten Säure in grösseren Mengen aus dem Harn wurde folgendes Verfahren angewandt. Zu dem auf dem Wasserbade bei $60-65^{\circ}$ C. eingeeengten Harn wurde so lange eine wässerige Lösung von Bleiacetat zugesetzt, bis der Niederschlag auch beim längeren Stehen keine Zunahme mehr zeigte. Das sauer reagirende Gemisch wurde im Verlauf von 12 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen und darauf filtrirt. Zum Filtrat wurde so lange eine wässerige Lösung von Bleiessig zugesetzt, als eine Probe des Filtrats noch Linksdrehung aufwies.

Es bleibt zu bemerken, dass bei diesen Versuchen, und zwar bei 4 Versuchen, es niemals gelang, die linksdrehende Substanz vollkommen zu fällen, weder durch Bleiessig allein, noch durch nachträglichen Zusatz von Ammoniaklösung.

Der abfiltrirte Bleiessigniederschlag wurde dreimal sorgfältig mit kaltem, destillirtem Wasser ausgewaschen, wobei der Niederschlag nach jedesmaligem Auswaschen sorgfältig

vermittelst Filtrirpapier abgepresst wurde. Beim Auswaschen ging ein Theil des Niederschlags in die wässrige Lösung, welche eine schwache Linksdrehung der Polarisationssebene zeigte. Der ausgewaschene Niederschlag wurde nach Möglichkeit rasch durch verdünnte Schwefelsäure zersetzt, wobei ein bedeutenderer Ueberschuss der letzteren vermieden wurde. Die erhaltene Lösung wurde so rasch wie möglich filtrirt: sie enthielt stets Salzsäure in nicht unbedeutenden Mengen.

Diese Lösung wurde sofort mit Barytwasser neutralisirt, auf dem Wasserbade bei $55-60^{\circ}$ erwärmt und filtrirt. Das neue Filtrat wurde auf dem Wasserbade bei $55-60^{\circ}$ eingengt, mit Aetzbaryt übersättigt und darauf zunächst mit 95%igem Alkohol, alsdann mit Aether so lange vermengt, als noch ein Niederschlag entstand. Bei der Fällung einer derartigen mit Aetzbaryt übersättigten Lösung von 550 ccm. wurden 650 ccm. 95%igen Alkohols und 600 ccm. Aether zugefügt.

Das Gemisch wurde nach sorgfältigem Umrühren 12 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen und durch ein Faltenfilter filtrirt. Der Niederschlag wurde sorgfältig mit Filtrirpapier abgepresst, mit Wasser geschüttelt und mit verdünnter Schwefelsäure zerlegt, bis neutrale oder amphotere Reaction eintrat. Die vom schwefelsauren Baryum getrennte, durch Thierkohle nach Möglichkeit stark entfärbte Lösung wurde auf dem Wasserbade bei $55-60^{\circ}$ bis zur Syrupconsistenz eingengt. Sie ging nach längerem Stehen bei Zimmertemperatur oder im Eisschrank allmählich in eine krystallinische Masse über. Dieselbe wurde von der Mutterlauge durch Absaugen getrennt und 1—2 mal unter Zusatz von Thierkohle umkrystallisirt. Die Krystalle hatten die Gestalt feiner, büschelförmig gruppirtter Nadeln.

Die auf diese Weise abgeschiedene Substanz löst sich leicht in Wasser bei gewöhnlicher Temperatur, ist jedoch nicht hygroskopisch. Die Analyse der einmal umkrystallisirten, zunächst im Vacuumexsiccator und darauf bei 100° bis zum constanten Gewicht getrockneten Substanz ergab folgende Daten:

0,5190 g Substanz gaben 0,1335 g AgCl
 0,5012 g „ „ 0,2075 g BaSO₄
 0,787 g „ „ 35,8 ccm. N₂ bei t = 23° und B = 766 mm.

Es wurden also gefunden:

Cl = 6,36%
 Ba = 24,34%
 N = 5,17%.

Die Analyse der zweimal umkrystallisirten Substanz ergab folgende Daten:

0,6892 g Substanz gaben 0,2875 g BaSO₄ und 0,1747 g AgCl
 0,4408 g „ „ beim Verbrennen 0,1620 g H₂O und 0,594 g CO₂
 0,5437 g „ „ „ „ 0,1945 g H₂O und 0,7257 g CO₂
 0,5820 g „ „ 24,6 ccm. N₂ bei t = 23° und B = 764 mm.

Die Analysenzahlen weisen somit auf ein Doppelsalz von BaCl₂ und dem Baryumsalz einer gepaarten Glycuronsäure von der Zusammensetzung (C₁₇H₁₉N₂O₈)₂Ba + H₂O hin.

	Berechnet	Gefunden	
für (C ₁₇ H ₁₉ N ₂ O ₈) ₂ Ba + BaCl ₂ + H ₂ O			
C	36,40%	36,76%	36,42%
H	3,57%	4,08%	3,97%
N	4,99%	4,79%	
Ba	24,44%	24,53%	
Cl	6,38%	6,27%	

Eine gepaarte Glycuronsäure von der beschriebenen Zusammensetzung würde entstehen durch Zusammentritt von Glycuronsäure mit einem Oxyantipyrin unter Wasseraustritt.

Ueber die Stellung der Hydroxylgruppe kann natürlich, so lange der Paarling nicht näher untersucht ist, nichts ausgesagt werden.

Die wässerige von Baryt befreite, mit Aetznatron stark alkalisch gemachte Lösung des genannten Baryumdoppelsalzes löst CuSO₄ auf; sie reducirt dieses Salz beim Kochen nicht.

Die mit 5%iger Salz- oder Schwefelsäure gekochte und mit Aetznatron alkalisch gemachte wässerige Lösung reducirt jedoch CuSO₄.

Die wässerigen Lösungen des Salzes geben mit Eisenchlorid eine Tokayerfarbe, mit Millon'schem Reagens die Millon'sche Reaction.

Die spezifische Drehung der wässrigen Lösungen dieses Baryumdoppelsalzes wurde mit dem Halbschattensaccharimeter, mit zweitheiligem Gesichtsfelde (Schmidt-Haensch) bestimmt. In der folgenden Tabelle sind die Befunde dieser Bestimmungen angeführt, wobei die Grösse (α) in Kreisgraden ausgedrückt ist und zwar für $l = 1$ dem.

p	d	(α)	(α) D für ($C_{17}H_{19}N_2O_8$) ₂ Ba + BaCl ₂ + H ₂ O	(α) D für ($C_{17}H_{19}N_2O_8$) ₂ Ba
11.451	1.06721	— 4.80°	— 39.33°	— 49.33°
5.605	1.03026	— 2.47°	— 42.82°	— 53.63°
2.805	1.01471	— 1.26°	— 44.36°	— 55.56°

Die wässrige Lösung des gegebenen Baryumdoppelsalzes zeigt somit Linksdrehung: die spezifische Drehung nimmt beim Verdünnen der Lösungen zu.

Die Anwesenheit von Chlorbaryum in diesem Doppelsalz erscheint insofern interessant, als das in das Doppelsalz eingehende Chlorbaryum die Krystallisation des neutralen Barytsalzes der gepaarten Glycuronsäure aus ihren anfänglichen, unreinen Lösungen begünstigt, wie es der folgende Versuch zeigt. Zu 275 ccm. einer Lösung, welche bei der Zersetzung eines Bleiessigniederschlags erhalten, mit Ba(OH)₂ neutralisirt worden war und eine Linksdrehung von — 2,95° aufwies, wurde eine wässrige Lösung von Ag₂SO₄ so lange hinzugefügt, als die Lösung mit AgNO₃ + HNO₃ einen Niederschlag gab: das Gemisch wurde filtrirt, das Filtrat wurde durch Thierkohle entfärbt und bei 55–60° bis zur Syrupconsistenz eingengt. Die erhaltene Lösung stand 7 Tage im Eisschrank, ohne zu krystallisiren. Nachher wurde diese Lösung mit Wasser verdünnt und derselben eine wässrige Lösung von Chlorbaryum, welche ungefähr 17 g des letzteren Salzes enthielt, zugesetzt und das Gemisch bis zur Syrupconsistenz eingengt. Beim Stehen bei Zimmertemperatur verwandelte sie sich vollkommen in eine krystallinische Masse. Der abgeschiedene, mit Filtrirpapier abgepresste Niederschlag hatte ein Gewicht von 20 g.

Derselbe wurde zweimal umkrystallisirt und zunächst im Vacuumexsiccator, alsdann bei 100° bis zum constanten Gewicht getrocknet; der Gehalt an Baryum betrug $24,50\%$.

0.9868 g Substanz gaben 0.2445 g BaSO_4 .

Die freie gepaarte Säure krystallisirt nicht oder krystallisirt jedenfalls sehr langsam aus den ursprünglichen Lösungen, welche durch Zerlegung der Bleiessigniederschläge mit Schwefelsäure erhalten wurden, wie es der folgende Versuch zeigt.

Eine Menge ausgewaschenen Bleiessigniederschlags aus einem Antipyrinharn wurde rasch durch verdünnte Schwefelsäure zersetzt: das Gemisch wurde sofort filtrirt: das Filtrat mit Aetzbaryt neutralisirt und mit dem Niederschlage und Thierkohle eingeengt. Die erhaltene eingeengte Lösung wurde von BaSO_4 und Kohle befreit und darauf bis zur Syrupconsistenz eingeengt. Zu dieser eingeengten Lösung wurde so lange verdünnte H_2SO_4 zugesetzt, als sich ein Niederschlag bildete. Die Lösung wurde durch Centrifugiren von dem Baryumsulfat abgeschieden und ungefähr einen Monat bei niedriger Temperatur im Exsiccator gehalten, wobei sich keine Spur von Krystallisation bemerkbar machte.

Die Darstellung der gepaarten Glycuronsäure aus dem Harn in Gestalt ihres Natron- resp. Kalisalzes, und zwar vermittelt heissen, verdünnten Alkohols erwies sich unbequem. Zu dem Zweck wurde der Antipyrinharn bei $55-60^{\circ}$ fast bis zum Trocknen eingeengt: der Rückstand wurde zunächst mit grossen Mengen 95% igen Alkohols ausgezogen, dann mit $75-80\%$ igem Alkohol theilweise auf dem Wasserbade bei $60-65^{\circ}$ unter öfterem Schütteln, theilweise durch Kochen auf dem Wasserbade in einem mit Rückflusskühler versehenen Kolben extrahirt. Sowohl das erste, durch $75-80\%$ igen Alkohol bei $60-65^{\circ}$ erhaltene Extract, als das durch Kochen gewonnene drehten die Ebene des polarisirten Lichtes nach links. Die Extracte wurden mit Thierkohle bei $55-60^{\circ}$ eingedampft, das Gemisch wurde filtrirt und zunächst mit 95% igem Alkohol, alsdann mit Aether so lange vermischet, als sich ein Niederschlag bildete; letzterer wurde überhaupt nur in unbe-

deutenden Mengen erhalten: nach einigen Wochen krystallisirte ein unbedeutender Theil desselben aus.

Die freie Oxyantipyringlycuronsäure wird aus ihren wässrigen Lösungen weder durch Aether, noch durch Essigäther noch durch Amylalkohol extrahirt.

Die vorläufigen Versuche, welche die Spaltung dieser gepaarten Säure betrafen, erweisen, dass in dieselbe das Antipyrin als solches nicht eingeht. Die Spaltung wurde dermassen vorgenommen, dass eine wässrige Lösung des genannten Baryumdoppelsalzes mit Salzsäure bis zu 5% angesäuert in einem mit Rückflusskühler versehenen Kolben so lange auf dem Wasserbade gehalten wurde, bis eine maximale Rechtsdrehung der Lösung erhalten wurde. Alsdann wurde die abgekühlte Lösung mit Chloroform so lange geschüttelt, als das Chloroform noch etwas extrahirte. Die Chloroformextracte wurden vereinigt, das Chloroform entfernt und der Rückstand mit Wasser und Thierkohle gekocht. Das Filtrat wurde eingengt und mit Eisenchlorid, Millon's Reagens und Phosphorwolframsäure+Salzsäure geprüft. Alle diese Reactionen erwiesen sich gewöhnlich als sehr schwache.

Meine weiteren Untersuchungen sind unter anderem darauf hingerichtet, zu erforschen, welche Mengen des in den Organismus des Hundes eingeführten Antipyrins in Gestalt der genannten gepaarten Glycuronsäure ausgeschieden werden.

Zum Schluss halte ich es für eine angenehme Pflicht, meinen herzlichen Dank Herrn Geheimrath Prof. Dr. Max Jaffé, auf dessen Vorschlag und unter dessen liebenswürdiger Leitung diese Untersuchung vorgenommen worden ist, auszudrücken.