

Über einige Verwendungen der Naphtochinonsulfosäure.

Von

Geh. Med.-Rat Prof. **P. Ehrlich**

und

C. A. Herter, M. D.

Professor der Pharmakologie u. Therapie, Columbia University, New-York.

(Aus dem königl. Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M.)

(Der Redaktion zugegangen am 20. März 1904.)

In der Chemie spielen Farbenreaktionen eine sehr wichtige Rolle beim Nachweis der verschiedenen Substanzen, insbesondere bei Alkaloiden und ähnlichen Verbindungen. Ein Nachteil vieler Farbenreaktionen besteht aber darin — und es gilt dies auch vor allem von der großen Zahl der Alkaloidreaktionen —, daß die Färbungen, welche zum Nachweis der betreffenden Substanzen dienen, sich nicht auf gefärbte Verbindungen zurückführen lassen, die der chemischen Analyse zugänglich sind. Es handelt sich nämlich meist um Passagephänomene, da die entstehenden Körper oft so zersetzlich sind, daß sie in reiner Form nicht isoliert und daher ihrer Natur und Konstitution nach nicht bestimmt werden können.

Ein anderer Nachteil, wenigstens soweit es sich um biologische Verwertung solcher Reaktionen handelt, besteht darin, daß häufig sehr stark wirkende Reagentien (z. B. konzentrierte Schwefelsäure) zur Verwendung kommen, welche eine intramolekulare Umlagerung des Ausgangsmaterials, Abspaltung bestimmter Atomgruppen oder Oxydation veranlassen sollen. Demgegenüber wird das Ideal jeder Farbenreaktion eine glatt verlaufende Synthese sein müssen, die zu Körpern führt, welche ihrer Konstitution nach wohl definierbar sind.

Derartige Synthesen haben medizinisch nach zwei Richtungen hin Interesse. Erstens können sie dazu dienen, eventuell unbekannte Substanzen, die unter normalen oder pathologischen

Verhältnissen in Sekreten in ganz geringer Menge vorkommen, erkennbar zu machen. Zu diesem Zwecke werden an erster Stelle besonders solche Substanzen geeignet sein, die mit nur einer eng begrenzten Kategorie von Verbindungen, aber dann auch mit Spuren derselben in Reaktion treten. Die Anwendung von Hilfsagentien, Säuren, Alkalien, Erwärmen, wird in diesem Falle als kein Hemmnis aufgefaßt werden dürfen, wenn nur zu stark eingreifende Vorgänge vermieden werden. Solche Reaktionen sind im Urin die Eisenchloridprobe, die Acetessigätherprobe, die Diazoreaktion in ihren verschiedenen Modifikationen und die von Ehrlich eingeführte Reaktion mit p-Dimethylamido-benzaldehyd.¹⁾

Eine zweite Verwendung, die diesen reaktionsfähigen Substanzen zukommt, liegt nach der biologischen Richtung hin; sie sollen nämlich Substanzsynthesen innerhalb des lebenden Organismus vollführen, die, zweckmäßig geleitet, vielleicht bei gewissen toxischen Agentien zur Entgiftung führen können.

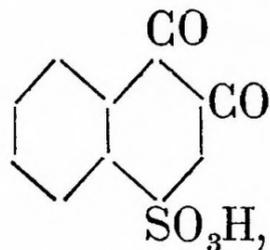
Die Auswahl der Substanzen ist hier noch weit beschränkter, indem die notwendige Vorbedingung hinzutritt, daß die Reaktion bei stärkster Verdünnung mit größter Schnelligkeit und insbesondere in fast neutralen Lösungen vor sich gehen muß. Außerdem kommt als eine weitere Notwendigkeit hinzu, daß die Substanz durch die Zellen des lebenden Organismus nicht denaturiert wird, und daß sie außerdem keine erhebliche Toxizität besitzt, um ihrer distinktiven synthetischen Fähigkeit nicht beraubt zu werden.

Derartige Substanzen, die so vielfachen und so seltenen Bedingungen zu entsprechen haben, sind außerordentlich schwierig zu finden. So würden z. B. vielleicht die Diazoverbindungen einem Teile der Bedingungen entsprechen, indem sie in großen Verdünnungen und außerordentlich schnell bei neutraler und schwach alkalischer Lösung kuppeln, wenn nicht die Toxizität und die große Zersetzlichkeit hemmend in den Weg treten würden. Sicher aber bietet jeder neue Schritt nach dieser Richtung hin ein besonderes Interesse.

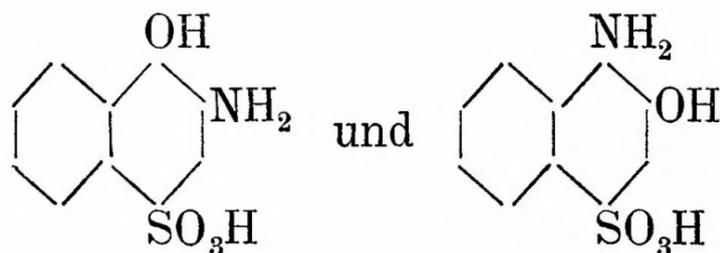
¹⁾ Dieser Aldehyd wirkt insbesondere auf Pyrrolverbindungen, Indol, Hämopyrrol und Tryptophan (Skatolaminoessigsäure nach Hopkins).

Aus diesem Grunde möchten wir kurz auf die Beschreibung einer Substanz eingehen, die vielleicht nach dem vorausgehenden einen kleinen Fortschritt bedeutet, wenn auch das erzielte Resultat der entgiftenden Funktionen noch nicht befriedigend ist; aber auch das negative Resultat ist in diesem Falle von Interesse und Bedeutung.

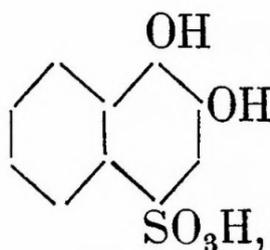
Es handelt sich hier um die 1,2-Naphtochinonsulfosäure (4) von der Formel



die von O. N. Witt¹⁾ durch geeignete Oxydation der Aminonaphtolsulfosäure

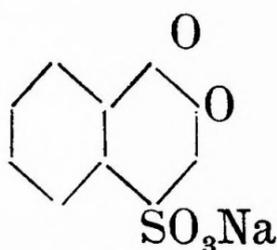


hergestellt ist, und deren eminente Reaktionsfähigkeit Witt, Böninger²⁾ und mehrere andere bereits erkannt haben. Durch Reduktion geht die Säure in das entsprechende farblose Hydrochinonderivat über



das bereits von Böninger (l. c.) beschrieben ist. Entsprechend der großen Reduktionskraft gewisser Zellen wird die Säure auch im Organismus zum größten Teil reduziert.

Das uns zur Verfügung stehende Präparat war das Natriumsalz

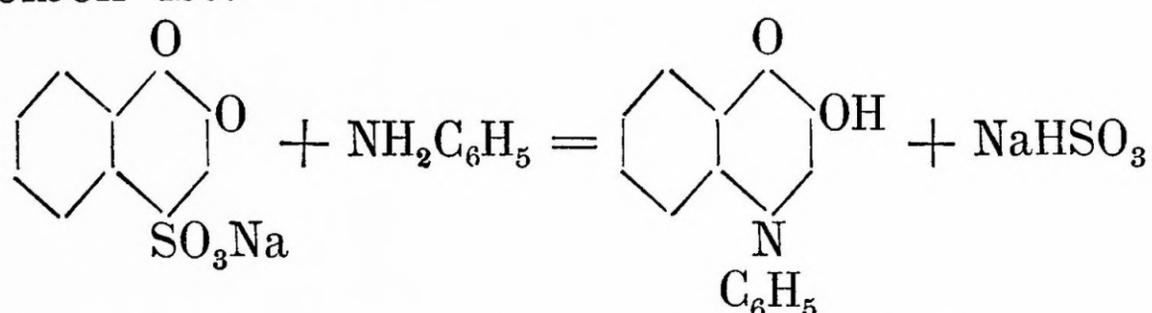


und stellte ein goldgelbes, in Alkohol schwer, in Wasser ziemlich leicht lösliches Pulver dar, das relativ geringe Toxizität besitzt.

¹⁾ Berichte der Deutschen chem. Gesellschaft, Bd. 24, S. 3163.

²⁾ Berichte der Deutschen chem. Gesellschaft, Bd. 27, S. 25.

Die Kuppelungsfähigkeit der Naphthochinonsulfosäure in neutralen und verdünnten Lösungen ist eine außerordentlich große. Nur einige wenige dieser synthetischen Vorgänge sind durch die in der Literatur vorhandenen Angaben klargelegt. Es handelt sich zunächst besonders um Kuppelungen mit solchen Verbindungen, die eine aromatische, primäre Aminogruppe besitzen, als deren Typus wir das Anilin wählen. Vermischt man eine wässrige Lösung von Anilin (1 : 10 000) mit einer ebensolchen von naphthochinonsulfonsaurem Natrium, so tritt sofort eine feuerrote Fällung auf, die der Bildung von Anilinonaphthochinon zuzuschreiben ist:



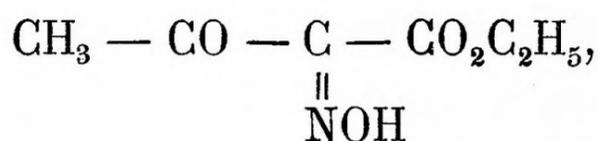
Die Kondensation erfolgt also unter Ausstoßung des Schwefelsäurerestes aus dem Naphtalinkern, ein Zeichen für die große Avidität, mit der die Verbindung sich bildet. Noch bei einer Verdünnung 1 Anilin : 300 000 Wasser erfolgt die Bildung eines Niederschlages, während eine Rötung noch bis zu 1 : 1 000 000 auftritt.

Die Reaktion bleibt nach unsern bisherigen Versuchen nur dann bei aromatischen Aminen aus, wenn eine Mehrzahl stark negativer Gruppen im Benzolkern vorhanden ist, wie beim Trinitroanilin, Tribromanilin usw. Dagegen ist festgestellt worden, daß außer dem Anilin und seinen Homologen, z. B. den Toluidinen, auch die Karbonsäuren (Anthranilsäure; m-, p-Aminobenzoensäuren), Sulfonsäuren, Diamine (Dimethyl-p-phenylen-diamin, m-Toluyldiamin), Aminoderivate des Naphthalins und deren Sulfonsäuren, kurz eine ungezählte Schar von Verbindungen, wie man dies schon aus Untersuchungen Böningers folgern konnte, sich paaren lassen. Bei den Derivaten der Monamine ist die Farbe des Niederschlages meist orange, während die Anwesenheit einer in p-Stellung befindlichen Dimethylamino-gruppe einen Farbenumschlag in violett bewirkt.

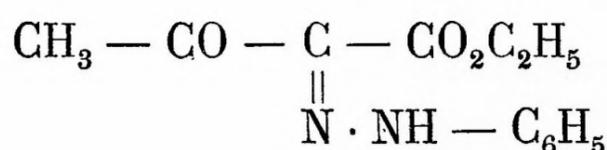
Die entstehenden Kondensationsprodukte sind für gewöhnlich unlöslich. Eine im Molekül vorkommende saure Gruppe

(CO₂H, SO₃H) macht in Alkali löslich, eine basische, besonders die Ammoniumgruppe, bewirkt Säurelöslichkeit.

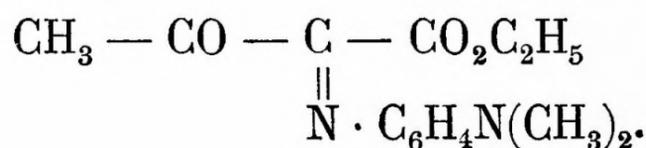
Eine zweite Klasse von Verbindungen, welche mit der Naphtochinonsulfosäure Kondensationsprodukte gibt, ist die Gruppe der sogenannten «sauren Methylenverbindungen». Unter diesen versteht man solche organische Körper, die zu beiden Seiten der CH₂-Gruppe negative Radikale, wie —CN, —COOC₂H₅, —CO · NH₂, —C₆H₅, —CO · COH₃ etc. haben. In diesen Substanzen ist der Wasserstoff der CH₂-Gruppe sehr beweglich. So erhält man z. B. aus Acetessigäther CH₃—CO—CH₂—CO₂C₂H₅ und salpetriger Säure (HO—NO) unter Wasseraustritt die Isonitrosoverbindung



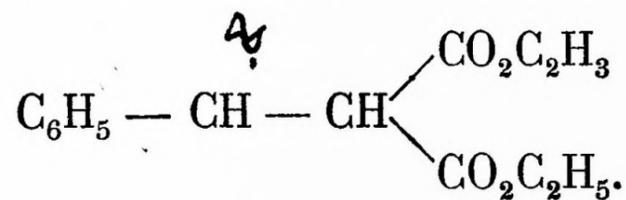
mit Diazobenzol (C₆H₅NH—NO in tautomerer Form) ebenfalls unter Wasseraustritt



und mit Nitrosodimethylanilin¹⁾ NO · C₆H₄N(CH₃)₂ nach derselben Reaktion ein Azomethin



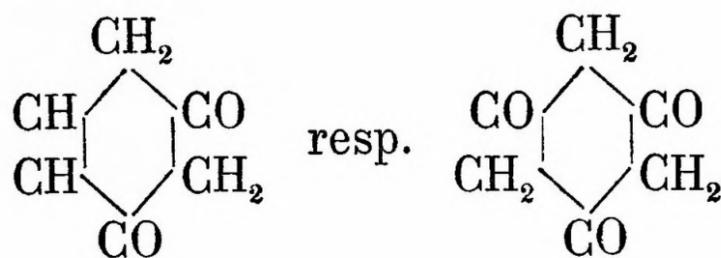
Auch in anderer Weise vermögen solche Methylenverbindungen noch Kondensationen einzugehen, so entsteht aus Benzaldehyd und Malonsäureester:



Alle diese Kondensationen gehen in alkalischer Lösung vor sich. Auch mit unserer Säure und Methylenverbindungen lassen sich mit der größten Leichtigkeit Kondensationsprodukte erhalten, und zwar am besten in Gegenwart von etwas Soda, nötigenfalls durch schwaches Erwärmen. Die hierbei auftretenden

¹⁾ P. Ehrlich und F. Sachs, Berichte der Deutsch. chem. Ges., Bd. 32, S. 2341.

Farbnüancen sind viel tiefer und mannigfaltiger als bei den Derivaten der Amine (cf. unten). Erwähnen möchten wir noch, daß Liebermann (z. B. Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft 31,2906) Farbenreaktionen beschrieben hat, die vielleicht mit den von uns beobachteten in genetischem Zusammenhang stehen, indem er konstatierte, daß sich α - und β -Naphtochinon, wie deren Halogenderivate, beispielsweise mit Natriummalonester unter Bildung von vergänglichen Farben vereinigen. Wir glauben, daß die Naphtochinonsulfosäure zur Isolierung derartiger Kondensationsprodukte weit geeigneter ist, als die Ausgangsmaterialien, die Liebermann benutzte, vor allem auch, weil sie in Wasser löslich ist. Im Anschluß an die Reaktionsfähigkeit der Methylenverbindungen sei auch erwähnt, daß Resorcin und Phloroglucin sich ebenfalls mit Naphtochinonsulfosäure kombinieren; wir glauben nämlich, daß diese beiden Phenole hier wie des öfters in der tautomeren Form als



reagieren.

Außerdem reagieren aber noch eine große Zahl von andern Verbindungen, so aliphatische primäre Amine, Methylamin, Camphylamin. Die Reaktion dürfte hier, ebenso wie bei den Aminen der aromatischen Reihe, d. h. unter Azomethinbildung verlaufen. Schwieriger zu erklären ist die Tatsache, daß auch sekundäre Amine, Piperidin, Diamylamin, Methylanilin usw., Farbenreaktionen geben. Hier wird erst die chemische Analyse Aufschluß geben können, ob sich die Reaktion zwischen molekularen Mengen der Komponenten abspielt, oder ob 2 Moleküle Amin mit einem Molekül Säure zusammentreten, sowie ob etwa unter Beibehaltung der SO_3H -Gruppe der Aminrest in den Kern eintritt. Auf die Anwesenheit einer NH-Gruppe ist wohl auch die Reaktionsfähigkeit einer Reihe von Alkaloiden zurückzuführen, so z. B. von Nicotin.

	Farbe in Sodalösung			
	sofort	nach 1—2 Min.	beim Kochen	mit Essig- säure versetzt
Nitromethan $\text{CH} \cdot \text{NO}_2$	rosenrot	blau- violett	tief- violett	gelb
Trinitro- toluol C_6H_2 $\begin{cases} \text{CH}_3^{(1)} \\ (\text{NO}_2)_3 \end{cases}$ 3, 4, 6	braun	braun- rot	braunrot	rotgelb
Brenztraubensäureester $\text{CH}_3 - \text{CO} - \text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5$	gelb	tief- grün	blaugrün	rot
Acetylaceton $(\text{CH}_3 \cdot \text{CO})_2\text{CH}_2$	gelb	rot- braun	tiefer	hellgelb
Benzoyl- aceton $\begin{matrix} \text{CH}_3 - \text{CO} \\ \text{C}_6\text{H}_5 - \text{CO} \end{matrix} \text{CH}_2$	gelbbraun	braun	tiefer	gelb
Acetondikarbonsäureester $(\text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5 - \text{CH}_2 - \text{CO})_2\text{CH}_2$	gelb	orange- rot	tiefer	hellgelb
Acetessig- ester $\begin{matrix} \text{CH}_3 - \text{CO} \\ \text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5 \end{matrix} \text{CH}_2$	gelbbrot	orange- rot	tiefer	hellgelb
Benzoyl- essigester $\begin{matrix} \text{C}_6\text{H}_5 - \text{CO} \\ \text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_6 \end{matrix} \text{CH}_2$	gelbbraun	braunrot	braunrot	gelb
Desoxy- benzoin $\begin{matrix} \text{C}_6\text{H}_5 - \text{CO} \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{matrix} \text{CH}_2$	gelb	gelbbraun	gelbbraun	gelb
Cyanacet- amid $\begin{matrix} \text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5 \\ \text{CN} \end{matrix} \text{CH}_2$	rot	purpur- rot	tiefrot- violett	hellgelb
Phenylpyrazolon	grün	blau	grünlich blau	gelbbrot
Methylphenylpyrazolon	blau- grün	schmutzig- grün	blau- grün	gelbbrot
Rhodaninsäure	rotbraun	tief- violett	tiefblau- violett	gelbroter Nieder- schlag
Resorcin	olivgrün	violett	grün- schwarz	gelbbrot
Phloroglucin	braun	braun- violett	braun- schwarz	gelb

Die gesperrt gedruckten Farben sind besonders intensiv.

Damit ist aber die Reihe der reagierenden Substanzen noch immer nicht erschöpft; eine große Zahl anderer organischer Körper, Pepton, Tyrosin, Harnsäure geben rasche und starke Reaktion in Sodalösung, die noch einer Rückführung auf bestimmte Gruppen bedarf. Es wird daher auch nicht Wunder nehmen, daß auch der Urin, wenn er mit Soda versetzt ist und naphtochinonsulfonsaures Natrium hinzugefügt wird, schnell eine dunkle Farbe annimmt; beim Sättigen mit Ammoniumsulfat fällt dann neben den andern aus salzbaren Körpern die Farbsubstanz als orangerotes Produkt so gut wie quantitativ aus. Es ist allerdings noch fraglich, ob bei der so multiplen Reaktionsfähigkeit der Naphtochinonsulfosäure diese Harnreaktion zu einer praktisch verwertbaren ausgearbeitet werden kann.

Es wird immer ein großes Interesse haben, Farbstoffe herzuleiten, in denen ein stark wirkender Rest enthalten ist, weil möglicherweise in einem Teile dieser Derivate toxische Wirkung erhalten sein könnte und damit die Möglichkeit gegeben wäre, durch biologische und mikroskopische Untersuchung den Zusammenhang zwischen Verteilung und Wirkung genau zu verfolgen, eine Forderung, deren allgemeine Bedeutung ohne weiteres ersichtlich ist. In solcher Absicht hat schon vor längerer Zeit der eine von uns (E.) mit Einhorn¹⁾ Untersuchungen mit dem Farbstoff angestellt, der aus diazotiertem Aminococain durch Kuppeln mit β -Naphthol entsteht, und der noch anästhetische Wirkung besitzt.

Wir sind zunächst bei einer vorläufigen Untersuchung zu dem Resultat gekommen, daß es drei Möglichkeiten gibt, zu neuen Kombinationen aus Alkaloiden zu gelangen, nämlich zwei von der Naphthochinonsulfosäure aus:

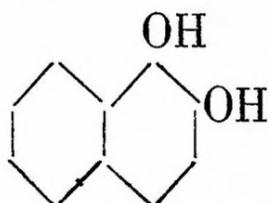
1. Man kondensiert hydrierte Basen, die noch ein Imidwasserstoffatom besitzen, wie Piperidin, Nicotin etc.,

2. Man stellt Aminoderivate dar, die die NH_2 -Gruppe im aromatischen Kern, z. B. in einer Benzoylgruppe haben, und kombiniert, wie eingangs geschildert.

Die dritte Methode, welche wir fanden, führt zu schönblauen Farbstoffen, sie ist wohl auf Indophenolbildung zurück-

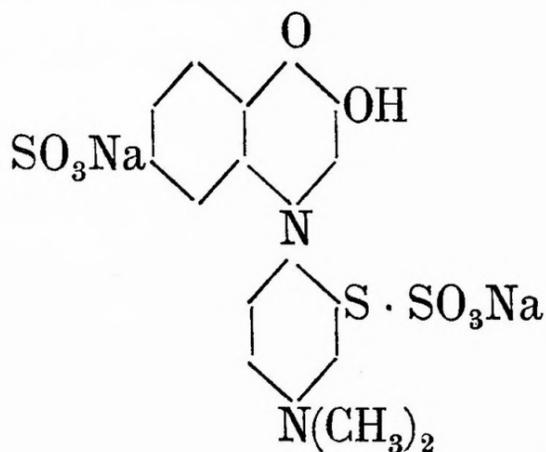
¹⁾ Berichte der Deutschen chem. Gesellschaft 27, 1870.

zuführen. Als besonders geeignet hierfür erwiesen sich zwei Körper, die den Brenzkatechinrest enthalten, nämlich Adrenalin und Apomorphin. Wie bekannt reagieren im allgemeinen aromatische Verbindungen mit zwei orthoständigen Hydroxylgruppen außerordentlich schlecht bei der Indophenolbildung, mit Ausnahme des 1,2-Naphtohydrochinons:

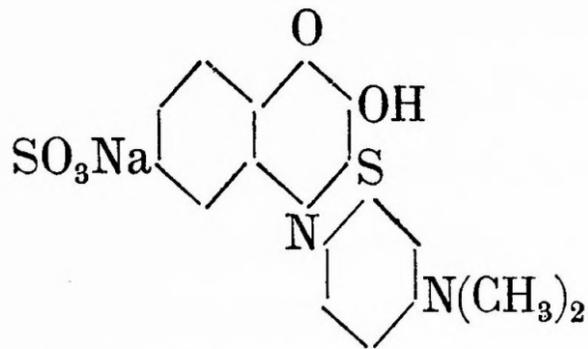


Einen neuen Weg schien die Beobachtung Nietzkis zu zeigen, welcher fand, daß aus Pyrogallussäure und Dimethylphenylendiaminthiosulfosäure ein Methylenblaukörper entsteht, wenn man die Komponenten in stark alkalischer Lösung durch Luftsauerstoff oxydiert. In der Tat konnten wir uns davon überzeugen, daß bei solcher Oxydation eines Gemenges von Dimethylphenylendiaminthiosulfosäure und Brenzkatechin, gelöst in Natronlauge, sich ein blauer Farbstoff bildet, der durch vorsichtiges Ansäuern mit Essigsäure in ganz unlöslicher Form ausgefällt wird. Genau das gleiche Resultat erhielten wir beim Adrenalin und Apomorphin; eine eingehendere Untersuchung dieser Farbstoffe behalten wir uns noch vor.

Eine äußerst lehrreiche Illustration zu dem Kapitel von Verwandtschaft zwischen chemischer Konstitution und Verteilung ergab das Studium zweier sich aus der Naphtochinonmonosulfosäure und -disulfosäure ableitenden Farbstoffe. Diese beiden Substanzen paaren sich, wie aus der Patentliteratur bekannt ist, leicht mit der schon oben erwähnten Dimethylphenylendiaminthiosulfosäure, welche sich aus dem Oxydationsprodukt aus Dimethyl-p-phenylendiamin und unterschwefliger Säure in statu nascendi bildet, zu violetten Farbstoffen. Der aus der Paarung der Naphtochinondisulfosäure mit der Thiosulfosäure resultierende Farbstoff hat die Konstitution:



und die Eigentümlichkeit, leicht unter Abspaltung von schwefliger Säure in ein Thiazinderivat:



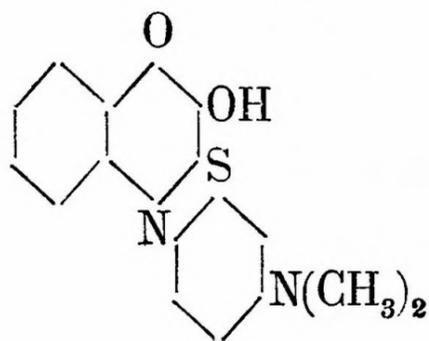
überzugehen. Dieser Farbstoff, der durch Vermittelung der beiden in ihm enthaltenen Säurereste lösliche Alkalisalze bildet, besitzt nur geringe Toxizität, sodaß man den Versuchstieren viel Farbstoff injizieren kann. Werden 50—80 ccm einer 2%igen Lösung dieses Farbstoffes einem großen Kaninchen langsam injiziert, so färbt sich die Haut des Tieres dunkel, während Leber und Niere fast schwarz werden, die Bindegewebe nehmen eine dunkelblaue Färbung an. Die Knorpel sind schwach gefärbt, die Muskeln grün, der Harnsatz und die Galle zeigen dunkle Färbung. Bauchspeicheldrüsen, Fett, Speicheldrüsen und Nervensystem sind frei von Färbung. Bemerkenswert ist, daß die kleinsten Gallenkapillaren mit dem Farbstoff prall angefüllt waren und man Bilder erhält, die wohl von keiner andern Methode erreicht werden. An Schnittpräparaten kann man sie leicht darstellen, wenn man kleinste Stückchen in absolut wasserfreiem Äther härtet, in Paraffin einbettet und die Schnitte unter Vermeidung von Wasser durch Toluol in Balsam überführt.

Wenngleich der injizierte Farbstoff violett erscheint, färbt er die Bindegewebe blau. Dieses Blau verhält sich in seinen Reaktionen z. B. gegen Salzsäure anders wie das Ausgangsmaterial und muß als ein Umwandlungsprodukt dieses aufgefaßt werden, das wohl mit Sicherheit als der schon oben erwähnte, dem Methylenblau entsprechende Thiazinfarbstoff anzusprechen ist.

In scharfem Gegensatze zu diesen Resultaten stehen die, welche durch Einspritzung des von uns durch Paarung gleicher Moleküle der Naphtochinonmonosulfosäure und der Thiosulfosäure des Dimethylphenylendiamins dargestellten Farbstoffes erzielt wurden. Dieser Farbstoff war von dem oben schon beschriebenen chemisch insofern verschieden, als die Sulfon-Gruppe im zweiten Naphthalinnucleus fehlte. Er ist purpurviolett,

schwer löslich und stärker toxisch als der erstere. Er ergab, in einer Lösung Kaninchen injiziert, ein ganz anderes Bild als das Indochromogen. Das Fett war purpurrot gefärbt, die Bauchspeicheldrüse erschien purpurfarben, die graue Substanz des Nervensystems tief purpurfarben, während die Bindegewebe leicht violett gefärbt waren.

Der fundamentale Unterschied in der Verteilung kann nur darauf bezogen werden, daß der erste Farbstoff einen stabilen Sulfonsäurerest hat, welcher ihm die Eigenschaft eines sauren Farbstoffs verleiht, welcher entsprechend dem von Ehrlich erwiesenen Gesetz Neuro- und Lipotropie ausschließt. Dagegen ist es kaum zweifelhaft, daß die Färbung von Hirn und Fett nicht durch den eingeführten Farbstoff, welcher ja als eine Thiosulfonsäure sauren Charakter besitzt, erfolgt, sondern durch das weit mehr toxische Umlagerungsprodukt, dem die Konstitution



zukommt. Es ist auffallend, daß bei beiden Farbstoffen die Umlagerung der Thiosulfonsäure in Körper der Thiazinreihe, welche im Reagensglas nur durch ziemlich eingreifende Agentien zu erreichen ist, so außerordentlich leicht erfolgt; es handelt sich hier vermutlich um katalytische, die Reaktion beschleunigende Einflüsse der Parenchyme.

Das geschilderte Verhalten liefert nun ein außerordentlich elegantes Mittel, um die Verteilung der verschiedensten aromatischen Amidokörper und deren Derivate, die wir oben kurz skizziert haben, innerhalb des Organismus verfolgen zu können. Da der eine von uns (H.) schon eine große Reihe derartiger Versuche angestellt hat und dieselben nach konstitutionschemischen Prinzipien zu erweitern gedenkt, begnügen wir uns heute nur mit einem Beispiel.

Injiziert man einem Tier Anilin subkutan und tötet es bei ausgesprochener Vergiftung, so gelingt es außerordentlich leicht, durch Bestreichen der Organe mit einer frisch bereiteten

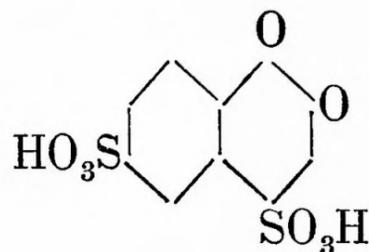
Lösung von Naphthochinonsulfosäure das Anilin nachzuweisen. Blutreiche Organe, deren Eigenfarbe eventuell geringe Spuren von Gelbfärbung verdecken könnte, können ruhig gekocht werden. Es werden dann nach dem Abkühlen frisch angelegte Schnittflächen mit dem Reagens bestrichen und der Überschuß der Farblösung schnell mit Filtrierpapier abgetrocknet. Die entstehende Rot-orange-Färbung gibt ein quantitatives Maß des Anilingehalts. Auf diese Weise kann man das Anilin in Leber, Herz, Skelettmuskeln in quantitativer, ungleicher Verteilung nachweisen. Das Gehirn enthält sonderbarerweise nur relativ geringe Mengen. Ebenso wurde auch versucht, die Verteilung der Naphthochinonmonosulfosäure im Organismus zu eruieren, jedoch waren hier die Ergebnisse sehr wenig befriedigend, indem die Schnittflächen der Organe nach der Bepinselung mit einem geeigneten Amin keine Verfärbung erkennen ließen. Als Ursache dieser Erscheinung zeigte sich, daß sich durch die Reduktionskraft der Gewebe aus dem Naphthochinon die Hydrochinonverbindung gebildet hatte, die nicht mehr fähig ist, sich mit dem Amin zu kuppeln. Diese Ermittlung wurde dadurch ermöglicht, daß man unter gewissen Kautelen die Orangefärbung doch erzielen konnte, wenn durch eine zwischengelegte Oxydation mit Persulfat das Hydrochinon in die reaktionsfähige Chinonstufe übergeführt wurde. Es trat übrigens auch bei diesen Versuchen die starke Oxydationswirkung des Hydrochinons dadurch zutage, daß das Blut starke Methämoglobinfärbung zeigte. Ein kleiner Teil des injizierten Naphthochinons geht übrigens in das Harnsekret über und kann daselbst durch Anilin leicht nachgewiesen werden. Nach diesen Versuchen war die Aussicht, innerhalb des Organismus Anilin und ähnliche Stoffe durch Zuführung von naphthochinosulfosaurem Natron zu entgiften, eine außerordentlich geringe. Kaninchen, denen subkutan orthoamidosaures, naphtylaminsulfosaures, sulfanilsaures Natron zugeführt wurde, zeigten zwar nach intravenöser Injektion von naphthochinonsulfosaurem Salz um die Injektionsstellen herum charakteristische Färbung, jedoch ließen sich keine Anhaltspunkte gewinnen, die dafür sprachen, daß innerhalb der Parenchyme sich ein Kuppelungsvorgang abgespielt hätte. Dies war auch

dann nicht der Fall, wenn beide Komponenten intravenös injiziert wurden, selbst auch dann nicht, wenn nicht das freie Amin, sondern seine Sulfosäure gewählt wurde.

So wurde einem kleinen Hunde 1,5 g sulfanilsaures Natrium in 100 ccm einer 0,85%igen Kochsalzlösung in die linke, 100 ccm einer 1%igen Lösung von naphtochinonmonosulfosaurem Natrium in die rechte Schenkelader eingespritzt. Die Lösungen gelangten auf diese Weise gleichzeitig in die Blutbahn, doch wurden die Injektionen — jedesmal 10 ccm — abwechselnd und mit Zwischenräumen von je 2—3 Minuten vorgenommen. Toxische Symptome waren in ausgesprochener Weise nicht bemerkbar. Nach Schluß der Injektionen wurde das Tier geöffnet und untersucht, doch fanden sich sämtliche Organe frei von Färbung, mit Ausnahme der Niere, die eine oberflächliche rote Färbung, besonders in der markigen Partie zeigte. Dagegen war der Urin und die Galle von tiefroter Farbe.

Das Interessante dieses Experimentes liegt in der Tatsache, daß, wenngleich die Parenchyme des Organismus frei von Farbstoff waren, doch in bestimmten Sekreten Farbstoff nachweisbar war, der wohl erst sekundär in dem Sekret durch den Zusammentritt beider Komponenten entstanden war. Es scheinen deshalb dieselben nicht in der gleichen Weise von den Zellen sezerniert zu werden.

Wir versuchten nun auf einem nicht ganz fernliegenden Wege, dem Problem der gezwungenen intravitalen Synthese näher zu treten. Wie bekannt, nimmt die Giftigkeit der meisten Substanzen durch eine Häufung von Schwefelsäuregruppen ab. Dies ist auch der Fall bei einer zweiten Substanz, die wir prüften, nämlich der Naphtochinondisulfosäure, von der Konstitution:



Das Salz dieser Säure ist weit weniger toxisch als das vorhergehende und im Gegensatz zu demselben nicht mehr Methämoglobinämie erzeugend. Seine Kuppelungsfähigkeit gegenüber Aminen und Aminderivaten ist die gleiche, nur sind auch

die Reaktionsprodukte, selbst wenn sie sich von den einfachen Aminien ableiten, alkali-löslich, da sie durch die in der Stellung 6 stehende und bei der Kombination nicht eliminierbare Sulfosäuregruppe den Charakter einer starken Farbstoffsäure besitzen. Dementsprechend waren auch die Resultate, die mit dieser Verbindung erzielt wurden, etwas günstiger.

Sehr befriedigend verliefen die lokalen Versuche. Für die Kuppelung innerhalb des Organismus erwies sich Anilin als ganz ungeeignet, offenbar weil das Disulfonat und das Anilin sich in ganz andern Zellbestandteilen speichern und daher die Voraussetzung der Kuppelung, die gleichzeitige Anwesenheit der beiden Komponenten an demselben Ort, nicht effektiert wurde. Wir wählten aus diesem Grunde zu den Paarungsversuchen Aminosäuren, da wir voraussetzten, daß diese günstigere Verteilungsbedingungen bieten würden. Gleichzeitig verwandten wir, um ganz sicher zu sein, zwei verschiedene Substanzen, nämlich amidobenzosäures und α -naphtylaminsulfosaures Natron. Die Injektion erfolgte doppelseitig und abwechselnd. Es zeigte sich in der Tat, daß die Mehrzahl der Organe, insbesondere Leber, Niere, vorzüglich Nierenmark, Muskeln, nicht aber Gehirn, gelblich-rosa gefärbt waren. Es war also in diesem Falle eine Synthese erfolgt, aber die Vereinigung war nur ganz partiell geschehen. Dies wurde dadurch bewiesen, daß wir die entsprechenden Mengen der Lösung vor der Injektion mischten, wobei sofortige und intensive Farbsynthese eintritt, und diese Farblösung injizierten. Die resultierende Körperfärbung war von demselben Verteilungstypus, aber unvergleichlich viel stärker als beim vorhergehenden Versuche der getrennten Injektion der beiden Komponenten.

Diese Versuche werden mit einigen andern Naphtochinon-derivaten fortgesetzt.
