

I. Zur „Diazotierung“ von Salvarsan  
II. Anaphylaktisierung und Anaphylaxie-  
auslösung mit Oleyl-N-methyl-aurin

---

Von der  
Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich  
zur Erlangung der  
Würde eines Doktors der technischen Wissenschaften  
genehmigte

**Promotionsarbeit**

vorgelegt von  
**Alfred Margot**  
dipl. Ingenieur-Chemiker  
aus Ste. Croix (Waadt)

Referent: Herr Prof. Dr. H. E. Fierz  
Korreferent: Herr Prof. Dr. L. Ruzicka

---

BASEL  
Buchdruckerei E. Birkhäuser & Cie., A. G.  
1938

Herrn Prof. Dr. H. E. Fierz und Herrn P. D. Dr. W. Jadassohn, unter deren Leitung die vorliegende Arbeit ausgeführt wurde, möchte ich auch an dieser Stelle für alle Förderung meinen herzlichen Dank aussprechen.

MEINEN LIEBEN ELTERN

## I. Zur „Diazotierung“ von Salvarsan.

---

*Landsteiner*<sup>1)2)</sup>, *Landsteiner* und *Levine*<sup>3)</sup>, *W. Jadassohn* und *Schaaf*<sup>4)</sup>, *H. E. Fierz*, *W. Jadassohn* und *W. G. Stoll*<sup>5)</sup> u. a. haben mit Atoxyl-azoverbindungen anaphylaktische Experimente durchgeführt. Die Resultate dieser Untersuchungen könnten unter Umständen für den Mechanismus anaphylaktischer bzw. anaphylaktoider Reaktionen beim Menschen von Interesse sein, besonders da es gelang, ohne Auslösung von anaphylaktischen Reaktionen (Schock, Uteruskontraktion) die anaphylaktische „Überempfindlichkeit“ aufzuheben („Neutralisationsphänomen“).

Es lag natürlich sehr nahe, für solche Versuche statt Atoxyl Salvarsan zu verwenden, nicht nur weil dem Salvarsan eine viel grössere therapeutische Bedeutung als dem Atoxyl zukommt, sondern auch weil wir die anaphylaktoiden Reaktionen des Menschen auf Salvarsan genau kennen.

*Haxthausen*<sup>6)</sup> hat mit tetrazotiertem Salvarsan beim Menschen zahlreiche Versuche durchgeführt und interessante Resultate erzielt. Gerade deswegen wäre es wichtig, die den Atoxylversuchen entsprechenden Tierversuche mit Salvarsan durchzuführen. Unsere Aufgabe war es daher, zunächst Verbindungen aus diazotiertem bzw. tetrazotiertem Salvarsan mit Eiweiss und Naphtholen herzustellen.

Trotz der umfangreichen chemischen Literatur über das Salvarsan und seine Derivate gibt es nur wenige Angaben über die Diazotierung<sup>7)</sup> und die Herstellung von Azofarbstoffen. Schon *Benda*<sup>8)</sup> erwähnt zwar, dass Natriumnitrit und Salzsäure das Dioxidiamino-arsenobenzol in die schwach kuppelnde Diazoverbindung überführt, die nur mit leicht kuppelnden Komponenten wie  $\beta$ -Naphthol, Resorcin, 2,7-Dioxynaphthalin kuppelt und intensiv gefärbte Farbstoffe liefert. Die Kupplung mit Phenolen und Naphtholen, speziell aber mit Resorcin wurde von *Abelin*<sup>9)</sup> zum Nachweis des Salvarsans im Urin benützt. Diese *Abelin*'sche Methode wurde in der Folge zur Aufklärung der Ausscheidungsverhältnisse des Salvarsans aus dem Körper von einer Reihe von Autoren

<sup>1)</sup> *Landsteiner*, J. Expl. Med. **39**, 631 (1924).

<sup>2)</sup> *Landsteiner*, The Specificity of Serol. Reactions. Baltimore 1936.

<sup>3)</sup> *Landsteiner* und *Levine*, J. Expl. Med. **52**, 347 (1930).

<sup>4)</sup> *W. Jadassohn* und *Schaaf*, Arch. Dermat. Syph. **170**, 33 (1934).

<sup>5)</sup> *H. E. Fierz*, *W. Jadassohn* und *W. G. Stoll*, Helv. **20**, 1059 (1937).

<sup>6)</sup> *Haxthausen*, Arch. Dermat. Syph. **171**, 583 (1935).

<sup>7)</sup> Im folgenden soll, ohne Rücksicht auf die Resultate der vorliegenden Untersuchungen, für die Behandlung des Salvarsans mit Nitrit der Ausdruck Diazotierung gebraucht werden.

<sup>8)</sup> *Benda*, *Kolle* und *Zieler*, Hdbch. d. Salvarsanther. I, 400.

<sup>9)</sup> *Abelin*, Münch. med. Wchschr. **58**, 1002 (1911).

verwendet, zum Teil modifiziert, zum Teil in Verbindung mit anderen Methoden<sup>1)</sup>. Aber schon *Ehrlich* hat gegenüber solchen Untersuchungen darauf hingewiesen, dass sie für Salvarsan nur dann beweisend seien, wenn gleichzeitig Arsen im entstandenen Farbstoff nachgewiesen wird. Tatsächlich gründet sich ja diese Reaktion nur auf das Vorhandensein einer aromatischen Aminogruppe, und der positive Ausfall ist für das Vorliegen von Salvarsan als Ganzes auch bei gleichzeitigem Nachweis von Arsen nicht beweisend. *Sieburg*<sup>2)</sup> konnte mit exakten chemischen Methoden Salvarsan im Harn tatsächlich nicht nachweisen; er fand Amino-oxy-phenylarsinsäure, Phenylarsinsäure und arsenfreie Abbauprodukte. Die *Abelin*'sche Methode hat natürlich trotzdem ihre Bedeutung für die Verfolgung der Ausscheidung des Salvarsans durch den Nachweis seiner Abbauprodukte. Ferner bildet die Darstellung von Azofarbstoffen, die sich vom Arsenobenzol ableiten, den Gegenstand des D.R.P. 271 271 von *Höchst*<sup>3)</sup>. Ihre Darstellung geschieht jedoch nicht auf dem Wege der Diazotierung des Salvarsans, sondern durch Diazotierung und Kupplung der 3-Amino-4-oxy-phenylarsinsäure und nachherige Reduktion zum Arsenobenzol mit unterphosphoriger Säure. *Remy*<sup>4)</sup> will für das Neosalvarsan das Kupplungsprodukt mit Resorcin isoliert und identifiziert haben. Zur Bestimmung des Salvarsans beschreibt *Gaebel*<sup>5)</sup> die Kupplung des diazotierten Salvarsans mit  $\beta$ -Naphthylamin.

Bei der leichten Oxydierbarkeit des Salvarsans erschien es uns wahrscheinlich, dass bei der Diazotierung in salzsaurer Lösung die salpetrige Säure die Arsenogruppe oxydierend angreifen würde. Dies wird auch im oben angeführten D.R.P. 271 271 als Tatsache angeführt. *Benda*<sup>6)</sup> erwähnt ebenfalls beim isomeren 4,4'-Diamino-3,3'-dioxy-arsenobenzol, dass es sich mit Nitrit nicht scharf titrieren lässt, da selbst bei 0° stets weit mehr salpetrige Säure infolge Oxydation der Arsenogruppe verbraucht wird, als die Theorie für zwei Aminogruppen verlangt. Es erschien darum fraglich, ob die von den oben aufgeführten Autoren beschriebenen Farbstoffe tatsächlich Derivate des Salvarsans waren und nicht solche der Phenylarsinsäure oder des Phenylarsinoxyds. (Eine Beschränkung auf die Darstellungsmethode des D.R.P. 271 271 war nicht möglich, weil zur Anaphylaktisierung Salvarsan mit Serum gekuppelt werden sollte.) Es war also notwendig, sich zunächst über den Verlauf der Diazotierung und die Oxydationsmöglichkeiten des Salvarsans mehr Klarheit zu verschaffen.

Salvarsan wird schon durch die Luft oxydiert, besonders in Lösung und vor allem in alkalischer Lösung. *Ehrlich* und *Bertheim*<sup>7)</sup> erwähnen, dass Salvarsan, der Luft ausgesetzt, alsbald Amino-oxy-phenylarsinoxyd enthält. In der Folge wurde allgemein angenommen, dass die Einwirkung von Luft auf wässrige Lösungen von Salvarsan und den sich ableitenden Präparaten in der Hauptsache zur Bildung der entsprechenden Arsinoxyde führe.

*Voegtlin* und *Smith*<sup>8)</sup> untersuchten die Oxydation des Salvarsans und anderer Verbindungen durch die Luft. Sie saugten bei 38° Luft durch die Lösungen und titrierten

1) *Stühmer, Kollé und Zieler*, Hdbch. d. Salvarsanther. I, 490.

2) *Sieburg*, Z. physiol. Ch. **97**, 53 (1916).

3) *Frdl.* **11**, 1048.

4) *Remy*, Bioch. Z. **137**, 133 (1923).

5) *Gaebel*, Arch. Pharm. **249**, 49 (1911).

6) *Benda*, B. **44**, 3582 (1911).

7) *Ehrlich* und *Bertheim*, B. **45**, 764 (1912).

8) *Voegtlin* und *Smith*, J. Pharm. Exptl. Therap. **16**, 199 (1921).

sie dann sauer mit Jod. Die angewandte Titrationsmethode wurde von *Gaebel*<sup>1)</sup> ausgearbeitet. Sie stellten fest, dass Salvarsan als Dichlorhydrat gegen Luftsauerstoff sehr beständig ist. Die Zugabe von Alkali führt zu einer raschen Zunahme der Oxydationsgeschwindigkeit, die ungefähr proportional der OH<sup>-</sup>-Ionenkonzentration ist. Durch Ansäuern der Lösung wird die Oxydation unterbunden. Um zu entscheiden, wie die Oxydation bezüglich der Bildung von Arsinoxyd und Arsinsäure verläuft, bestimmten die Autoren neben dem Total an dreiwertigem Arsen das jeweilig vorhandene Arsinoxyd nach der Methode von *Ehrlich* und *Bertheim*<sup>2)</sup> durch Trennung auf Grund der verschiedenen Löslichkeit in Natriumbicarbonat. Sie fanden dabei, dass das Verhältnis des noch vorhandenen Salvarsans und Arsinoxydes bei einem bestimmten Punkt der Oxydation (wenn z. B. total 50% des Salvarsans oxydiert sind) verschieden ist, je nach der Geschwindigkeit, mit welcher die Oxydation vor sich geht, d. h. also je nach der Alkalität. Sie sind der Ansicht, dass das Natriumsalz des Salvarsans erst zum Arsinoxyd und dieses parallel zur Arsinsäure oxydiert wird.

*Maschmann*<sup>3)</sup> hält die Annahme der leichten Oxydierbarkeit des Salvarsans durch Luftsauerstoff zum Arsinoxyd für nicht zutreffend. Er untersuchte die Reaktionsfähigkeit von Arsenobenzolen gegen molekularen Sauerstoff durch Messung des Sauerstoffverbrauchs. Es zeigte sich dabei, dass zwischen dem nichtsubstituierten Arsenobenzol und den „Salvarsanen“ ein grosser Unterschied besteht. Die „Salvarsane“ reagieren im Gegensatz zum Arsenobenzol nur träge. Die Sauerstoffaufnahme hängt stark davon ab, ob sie in fester Form, als Chlorhydrat, in neutraler oder alkalischer Lösung vorliegen. In trockenem Zustand ist die Sauerstoffaufnahme sehr gering und besteht nur in einer Adsorption. In Lösung muss es sich um chemische Reaktionen handeln, wie schon die sichtbaren Veränderungen der Farbe und das Auftreten von Niederschlägen wahrscheinlich machen. *Maschmann* konnte keinen einheitlichen Reaktionsmechanismus feststellen. Es zeigte sich jedoch, dass der Arsenogruppe in den gelösten Präparaten nicht die Empfindlichkeit gegen molekularen Sauerstoff zukommt, wie dies allgemein angenommen wurde und wie es bei der Reaktionsfähigkeit des Arsenobenzols erwartet werden sollte. Der Sauerstoffverbrauch ist hauptsächlich durch die Substituenten bedingt. In Natronlauge gehen wenigstens zwei Reaktionen vor sich, an der o-Amino-oxy-Gruppierung und an der Arsenogruppe, wobei die erste mit grösserer Geschwindigkeit verläuft und Hauptverbraucher des Sauerstoffs ist. Der Sauerstoffverbrauch steigt mit zunehmender Alkalität.

Es gelang *Maschmann*, aus dem Reaktionsgemisch bis zu 7% 3-Amino-4-oxyphenylarsinsäure zu gewinnen, so dass die Oxydation an der Arsenogruppe bewiesen ist. Der Nachweis der Arsinoxydbildung konnte nicht erbracht werden.

*Rosenthal*<sup>4)</sup> benützte zum Nachweis von Arsinoxyd die Farbstoffbildung mit 1,2-Naphthochinon-4-natriumsulfonat und stellte fest, dass Salvarsan bei p<sub>H</sub> 7,3 langsam, bei p<sub>H</sub> 9,5 rasch Arsinoxyd bildet.

Die Angaben der einzelnen Autoren widersprechen sich also zum Teil und geben keineswegs ein klares Bild über die offenbar vielfältigen Reaktionen bei der Oxydation des Salvarsans durch Luftsauerstoff. Es herrscht übrigens auch über die Zusammenhänge der Oxydationsreaktionen mit der Zunahme der Toxizität trotz zahlreicher Untersuchungen keinerlei Klarheit.

Durch milde Oxydationsmittel, wie Sublimat, wird das Salvarsan in 3-Amino-4-oxyphenylarsinoxyd übergeführt. Wasserstoffperoxyd in alkalischer Lösung und Jod in saurer Lösung oxydieren es zur 3-Amino-4-oxyphenylarsinsäure.

<sup>1)</sup> loc. cit.      <sup>2)</sup> *Ehrlich* und *Bertheim*, B. 45, 756 (1912).

<sup>3)</sup> *Maschmann*, B. 59, 1142 (1926).

<sup>4)</sup> *Rosenthal*, Public Health Reports 47, 933 (1932).

Wie schon erwähnt, war also zu erwarten, dass auch die salpetrige Säure die Arsenogruppe oxydieren würde. Dabei bestanden grundsätzlich folgende Möglichkeiten:

1. Das Salvarsan wird durch das Nitrit zunächst diazotiert bzw. tetrazotiert und erst ein Überschuss an Nitrit oxydiert die Arsenogruppe.
2. Das Salvarsan wird zuerst oxydiert und die gebildeten Oxydationsprodukte werden diazotiert.
3. Die verschiedenen Reaktionen verlaufen nebeneinander.

Wir verwendeten für unsere Versuche das Altsalvarsan (Präparat 606, Dichlorhydrat des 3,3'-Diamino-4,4'-dioxy-arsenobenzols). Das jetzt meist in der Luestherapie zur Verwendung gelangende Neosalvarsan, Präparat 914, bildet zur Hauptsache ein Gemisch wechselnder Zusammensetzung der 3,3'-Diamino-4,4'-dioxy-arsenobenzolmonomethansulfinsäure und der -dimethansulfinsäure. Daneben enthält das Produkt freien Hyraldit, Natriumsulfit und -chlorid, sowie geringe Mengen anderer Arsenobenzolderivate und war somit für unsere Untersuchungen ungeeignet. Die beiden Aminogruppen des Salvarsans stehen in o-Stellung zu Oxygruppen. o-Aminophenole lassen sich im allgemeinen wie gewöhnliche Amine in kuppelnde Diazoverbindungen überführen. Ihr Verhalten ist nur insofern ein anderes, als die Diazoniumgruppe mit dem o-ständigen Hydroxyl reagiert, und man statt der Diazoniumsalze die meist schwerlöslichen Diazoxyde erhält. Nach *Wolff*<sup>1)</sup> ist diesen Verbindungen eine Formel vom Chinotypus zuzuschreiben. In bezug auf die Kupplung verhalten sich aber die Diazo-anhydride qualitativ genau wie normale Diazoniumverbindungen. In gewissen Fällen gelingt es jedoch nicht, o-Aminophenole in Gegenwart von Mineralsäure zu diazotieren, wie z. B. bei der 1,2,4-Amino-naphtholsulfosäure, welche durch die freie salpetrige Säure zum Chinon oxydiert wird. *Sandmeyer* fand aber, dass diese Verbindung bei Gegenwart von wenig Kupfer in neutraler Lösung diazotiert werden kann<sup>2)</sup>. *Elbel* zeigte, dass gleichfalls eine Diazotierung in neutraler Lösung möglich ist bei Gegenwart von mindestens einem Mol Zinksalz (Diazotierung mit Zinknitrit<sup>3)</sup>). Diese Methoden waren für die vorliegende Arbeit insofern von Interesse, als sie eine Möglichkeit der Diazotierung des Salvarsans ohne gleichzeitige Oxydation bieten konnten.

### Experimentelles.

Das verwendete Altsalvarsan war zum Teil solches aus Originalampullen der *I. G. Farbenindustrie*, zum Teil ein von uns nach bekannten Methoden aus Atoxyl dargestelltes Produkt.

<sup>1)</sup> *Wolff*, A. **312**, 126 (1900).

<sup>2)</sup> D.R.P. 171024, 172446, Frdl. **8**, 640—646.

<sup>3)</sup> D.R.P. 175593, 178621, 178936, 176618, Frdl. **8**, 648—650.

Bei der Diazotierung einer einprozentigen Salvarsanlösung ist folgendes zu beobachten: Beim ersten Tropfen Nitrit schlägt die blassgelbe Farbe der salzsauren Lösung in eine intensiv gelbe um, die Lösung kuppelt schwach mit sodaalkalischem Resorcin,  $\alpha$ -Naphthol usw. Bei weiterer Zugabe von Nitrit unter gutem Rühren bleibt die Lösung bei 0° bis zur Zugabe von ca. 1,5 Mol klar, bei höherer Temperatur fällt schon früher ein gelber flockiger Niederschlag aus. Reaktion auf Kaliumjodidstärkepapier tritt erst bei Anwendung von 3,6 bis 3,8 Mol Nitrit pro Mol Salvarsan auf. Die Löslichkeit des Niederschlages bei Neutralisation und Alkalisierung mit Soda oder Lauge ist abhängig von der angewandten Menge Nitrit und der Zeit, während welcher das diazotierte Salvarsan stehen gelassen wurde. In wenigen Stunden verfärben sich die Lösungen und Niederschläge in saurer und alkalischer Lösung; sie kuppeln aber mit Resorcin noch nach mehreren Stunden.

#### Verfolgung der Diazotierung durch Kupplung mit einer Komponente.

Trotz sehr zahlreicher Versuche gelang es nicht, die Diazotierung des Salvarsans durch Kupplung mit Komponenten (Resorcin,  $\alpha$ -Naphthol usw.) quantitativ zu verfolgen. Der Endpunkt der Kupplung lässt sich infolge der ungünstigen Färbung, der beschränkten Zahl anwendbarer Komponenten und der Verfärbung der Diazolösungen meistens nicht genau feststellen. Auch die Rücktitration der im Überschuss zugegebenen Komponente mit Diazobenzol führt zu keinem Resultat. Gibt man Diazobenzol zu diazotiertem und auch nicht diazotiertem Salvarsan in Abwesenheit einer Komponente, so setzt in neutraler und alkalischer Lösung sofort Gasentwicklung ein, während ein kleiner Teil zu kuppeln scheint. Offenbar wird aber die Hauptmenge an Diazobenzol zersetzt, analog der bekannten Reduktion durch das m-Amino-p-kresol, welche in diesem Fall nach *Richard*<sup>1)</sup> durch Zusatz von Thiosulfat, Thioharnstoff oder Rhodaniden verhindert werden kann.

#### Diazotierung in neutraler Lösung.

Die Diazotierung des Salvarsans in neutraler Lösung nach *Sandmeyer* in Gegenwart von wenig Kupfer und nach *Elbel* in Gegenwart eines Moles Zinksalz (vgl. S. 283) führte zu keiner kuppelnden Verbindung, während interessanterweise die 3-Amino-4-oxy-phenylarsinsäure nach *Elbel* diazotiert werden konnte, dagegen nicht nach *Sandmeyer*. Auf diese Versuche soll hier nicht näher eingegangen werden.

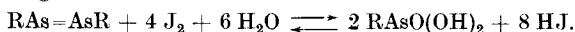
<sup>1)</sup> *Richard*, D.R.P. 224024; Frdl. 10, 844.



## Verfolgung der Oxydation der Arsenogruppe des Salvarsans bei der Diazotierung durch Titration mit Jod.

Da vor allem die Feststellung einer Oxydation der Arsenogruppe des Salvarsans bei der Diazotierung von Interesse war, führten wir eine Reihe von Titrationsen mit Jod durch.

*Gaebel*<sup>1)</sup> hat die Oxydation des Salvarsans durch Jod in saurer Lösung zur Gehaltsbestimmung von Salvarsanlösungen benützt. Die Reaktion entspricht der Oxydation von Arsentrioxyd durch Jod in Gegenwart von Natriumbicarbonat und verläuft nach der Gleichung:



Im Gegensatz zum Arsentrioxyd muss die Oxydation in saurer Lösung ausgeführt werden, da bei einer zu geringen Wasserstoffionenkonzentration die entstehende Oxy-amino-phenylarsinsäure mit dem Jod unter Bildung eines intensiv braun gefärbten Produktes reagiert und bedeutend mehr Jod verbraucht wird. *Gaebel* hat die entstehende 3-Amino-4-oxy-phenylarsinsäure isoliert, er nimmt aber an, dass intermediär das 3-Amino-4-oxy-phenylarsinoxyd gebildet wird. Die Oxydation verläuft nicht vollständig, sondern führt zu einem Gleichgewicht. Es werden effektiv nur 7,5 Atome Jod pro Mol Salvarsan verbraucht, statt 8 Atome, wie es die Theorie verlangt. Dass tatsächlich ein Gleichgewicht vorliegt, hat *Gaebel* durch einige Versuche dargelegt, indem z. B. die Gleichgewichtslage von der Wasserstoffionenkonzentration abhängig ist. Trotzdem kann die Reaktion titrimetrisch zur quantitativen Bestimmung des Salvarsans bzw. des vorhandenen dreiwertigen Arsens verwendet werden, da die Gleichgewichtslage für ziemlich weite Grenzen der Konzentration dieselbe ist, das Gleichgewicht sich sehr rasch einstellt und der Endpunkt der Titration scharf ist.

Die Titration mit Jod wurde auch von *Ehrlich* und *Bertheim*<sup>2)</sup> für die Bestimmung des p-Amino-phenylarsinoxydes angewandt, und zwar kann diese in essigsaurer Lösung ausgeführt werden, wodurch sie quantitativ verläuft. Das 3-Amino-4-oxy-phenylarsinoxyd hingegen muss wie das Salvarsan in mineralaurer Lösung oxydiert werden, da auch Oxy-amino-phenylarsinsäure entsteht, welche in essigsaurer oder bicarbonatalkalischer Lösung, wie bereits erwähnt, mit Jod reagiert<sup>3)</sup>.

Es fragte sich, ob die Methode auch für diazotiertes Salvarsan anwendbar ist. Wir stellten fest, dass diazotierte 3-Amino-4-oxy-phenylarsinsäure erwartungsgemäss kein Jod verbraucht und dass die Titration des diazotierten Salvarsans ebenfalls in mineralaurer Lösung vorgenommen werden muss. Zur Feststellung, ob die Oxydation zu einem ähnlichen Gleichgewicht führt, wie die des nicht diazotierten Salvarsans, benützten wir die Tatsache, dass beim Ansäuern einer Lösung von 3-Amino-4-oxy-phenylarsinsäure in Gegenwart von Kaliumjodid bei einem bestimmten  $p_{\text{H}}$  Jod ausgeschieden wird, indem das Gleichgewicht der weiter oben formulierten Oxydationsreaktion durch Erhöhung der Wasserstoffionenkonzentration nach links verschoben wird. Die Jodausscheidung trat in der diazotierten 3-Amino-4-oxy-phenylarsinsäure-Lösung und der Vergleichslösung bei ungefähr dem gleichen  $p_{\text{H}}$  ein. Hingegen ist der Endpunkt bei der Titration des diazotierten Salvarsans nicht mehr scharf. Die

<sup>1)</sup> *Gaebel*, Arch. Pharm. **249**, 241 (1911).

<sup>2)</sup> *Ehrlich* und *Bertheim*, Ber. **43**, 921 (1910).

<sup>3)</sup> *Ehrlich* und *Bertheim*, Ber. **45**, 759 (1912).

Schärfe nimmt mit steigender Diazotierung ab, offenbar wegen des entstehenden Niederschlages, der auch Jod verbraucht, aber langsamer reagiert. Zentrifugiert man ihn ab, so ist der Endpunkt der Lösung wieder ziemlich scharf. Es wurden in den verschiedenen Versuchsreihen Resultate erhalten, die genügend genau übereinstimmen.

Prinzipiell ist zu bemerken, dass durch einfache Titration einer Lösung mit ursprünglich bekannter Salvarsanmenge, die dann teilweise zur Arsinsäure oxydiert wurde, nicht berechnet werden kann, wie gross die Anteile der einzelnen Oxydationsprodukte waren. Die Tatsache, dass 1 Mol Phenylarsinoxyd nur ein Viertel der Menge an Jod verbraucht, die von 1 Mol Salvarsan reduziert wird, erlaubt lediglich, Minimum und Maximum für die einzelnen Verbindungen im Gemisch anzugeben. Ob nun bei der Diazotierung im Falle einer Oxydation Phenylarsinoxyd oder direkt Phenylarsinsäure entsteht, war unbekannt, so dass die Auswertung der Titrationsresultate auch nur eine beschränkte sein konnte.

Wir titrierten zunächst Salvarsanlösungen, die mit steigenden Mengen Nitrit diazotiert worden waren, und zwar nach folgendem Schema:

0,048 g Altsalvarsan ( $10^{-4}$  Mol) wurden in 5 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst, 0,12 bis 0,45 cm<sup>3</sup> n. HCl aus einer Mikrobürette zugefügt, die Lösung durch äussere Kühlung auf 0—3° abgekühlt und bis zum Schluss des Versuches auf dieser Temperatur gehalten. Dann wurden unter Rühren 0,02 bis 0,35 cm<sup>3</sup> n. NaNO<sub>2</sub> aus einer Mikrobürette zugetropft, und die Lösung anschliessend unter Zugabe von Stärkelösung mit 0,1-n. Jodlösung titriert. Infolge der starken Eigenfarbe der Diazolösung schlägt am Endpunkt die Farbe nach einer dunklen Mischfarbe um. Namentlich bei stark diazotierten Lösungen hellt sich diese mehrmals nach 1—2 Minuten wieder auf, bleibt dann aber nach weiterem Jodzusatze bestehen.

Die Resultate sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Sie ergeben die Tatsache, dass die Oxydation der Arsenogruppe bei der Diazotierung des Salvarsans im Gegensatz zur Oxydation mit Luftsauerstoff auch in saurer Lösung sofort einsetzt. Ferner zeigen sie, dass bei vollständiger Diazotierung, d. h. bis zur Reaktion der Lösung auf Kaliumjodidstärkepapier, das Salvarsan nicht vollständig zur Arsinsäure oxydiert ist, da in diesem Falle kein Jod verbraucht werden dürfte. Tatsächlich beträgt aber der Jodverbrauch noch ungefähr 40% desjenigen der nicht diazotierten Lösung.

#### Untersuchung des Diazotierungsgemisches.

Es handelte sich darum, festzustellen, welche Reaktionsprodukte im offenbar entstehenden Gemisch tatsächlich auftreten. Nach den obigen Titrationsresultaten und den bei der Oxydation des Salvar-

sans durch Luftsauerstoff gemachten Feststellungen konnten es folgende Verbindungen sein:

- Salvarsan, diazotiertes bzw. tetrazotiertes Salvarsan;
- Amino-oxy-phenylarsinoxyd, diazotiertes Amino-oxy-phenylarsinoxyd;
- Amino-oxy-phenylarsinsäure, diazotierte Amino-oxy-phenylarsinsäure;
- andere Phenylarsinderivate (Chinone, Nitroverbindungen usw.).

Tabelle 1.

Titration von diazotiertem Salvarsan mit Jod.

Angewandte Salvarsanmenge: 0,048 g ( $10^{-4}$  Mol)

Temperatur: 0—3°.

Mole NaNO <sub>2</sub> pro Mol Salvar- san	J <sub>2</sub> -Ver- brauch cm <sup>3</sup> 0,1-n.	Salvarsan + 0,003 g Gleichgew. Korrektur <sup>1)</sup> g	Salvar- san % 2)	Phenyl- arsin- säure % 2)	Salvar- san % 3)	Phenyl- arsin- oxyd % 3)
0,2	7,45	0,0472	98,4	1,6	96,8	3,2
0,5	6,75	0,0431	89,8	10,2	79,6	20,4
1,0	5,65	0,0366	76,2	23,8	52,4	47,6
2,0	4,90	0,0321	66,9	33,1	33,9	66,1
3,0	4,40	0,0292	60,8	39,2	21,6	78,4
3,5	3,25	0,0223	46,5	53,5		
1,0	5,70	0,0368	76,7	23,3	53,4	46,6
2,0	5,00	0,0327	68,1	31,9	36,2	63,8
2,5	4,80	0,0315	65,7	34,3	31,4	68,6
3,0	4,40	0,0291	60,7	39,3	21,4	78,6
3,2	3,95	0,0264	55,2	44,8	10,4	89,6
0,5	6,70	0,0428	89,2	10,8	78,4	21,6
1,5	5,15	0,0336	70,0	30,0	40,0	60,0
2,0	4,90	0,0321	66,9	33,1	33,8	66,2
0,2	7,25	0,0461	96,0	4,0	92,0	8,0
1,5	5,10	0,0333	69,4	30,6	38,8	61,2
2,5	4,65	0,0306	63,8	36,2	27,6	72,4
3,2	3,73	0,0252	52,5	47,5	5,0	95,0

<sup>1)</sup> Bei der Berechnung des Salvarsangehaltes aus dem Jodverbrauch berücksichtigt *Gabel* die Tatsache der Erreichung des Gleichgewichtes und damit des Endpunktes der Titration, wenn erst 94% des Salvarsans oxydiert sind, dadurch, dass er einen entsprechenden Faktor einsetzt. Dies ist korrekt, wenn zu Beginn der Titration keine Arsinsäure in der Lösung ist. Bei den vorliegenden Versuchen musste dieser Faktor durch einen Summanden ersetzt werden. Ob beim Gleichgewicht effektiv Arsinoxyd und Arsinsäure vorhanden sind oder Salvarsan und Arsinsäure, spielt für die Umrechnung des Jodverbrauchs auf Salvarsangehalt keine Rolle, wenn die entsprechenden Molekulargewichte in die Rechnung eingesetzt werden.

<sup>2)</sup> für den Fall, dass bei der Diazotierung nur Arsinsäure entsteht.

<sup>3)</sup> für den Fall, dass bei der Diazotierung nur Arsinoxyd entsteht.

Die Untersuchung wurde aber sehr erschwert durch die Tatsache, dass die für die einzelnen Verbindungen bekannten qualitativen Einzelreaktionen in diesem Gemisch versagen mussten. Überdies hat man es beim Salvarsan und den meisten Arsenobenzolen nicht mit krystallisierten, sondern amorphen Substanzen zu tun, deren Lösungen beim blossen Stehen an der Luft in wenigen Stunden chemisch nicht geklärte Veränderungen erleiden.

Der Nachweis von unverändertem und nicht diazotiertem Salvarsan im Diazotierungsgemisch interessierte nicht.

Der Nachweis von diazotiertem bzw. tetrazotiertem Salvarsan war biologisch von besonderem Interesse, musste aber auf Schwierigkeiten stossen, da es eine direkte Nachweismethode des Salvarsans selbst als Ganzes nicht gibt. Die zur Klärung des Schicksals des Salvarsans im Organismus ausgeführten zahlreichen Untersuchungen stützen sich alle auf Methoden, welche auf allgemeinen Reaktionen der o-Amino-oxy-Gruppierung (Farbreaktionen) fussen, oder auf solchen der Aminogruppe (Diazotierung, Kupplung, Kondensation mit Aldehyden), oder auf dem Nachweis des Arsens als solches. Es sind also alles Reaktionen, die beim diazotierten Salvarsan nicht anwendbar sind.

Nicht diazotiertes Amino-oxy-phenylarsinoxyd interessierte biologisch ebenfalls nicht.

Für den Nachweis des diazotierten Amino-oxy-phenylarsinoxydes stand keine spezifische Reaktion zur Verfügung.

Die Amino-oxy-phenylarsinsäure kann ausser mit hier nicht anwendbaren Reaktionen (Reduzierbarkeit usw.) durch zwei Farbreaktionen nachgewiesen werden: Rotfärbung mit Bichromat in osurer Lösung, Olivgrünfärbung mit Hypochlorit in alkalischer Lösung. Erwartungsgemäss zeigen aber auch Salvarsan und Amino-oxy-phenylarsinoxyd diese Oxydationsreaktionen, die somit für den positiven Nachweis der Arsinsäure keine Anwendung finden konnten. Die diazotierten Verbindungen geben sie aber nicht, so dass der Ausfall der Reaktionen Rückschlüsse erlaubt. Wie wir feststellten, sind die Reaktionen für die drei Verbindungen bei einer Verdünnung auf  $10^{-3}$  auch deutlich, bei  $10^{-4}$  nur noch schwach. Wir führten nun diese Reaktionen bei Salvarsanlösungen aus, die genau nach dem Schema für die Diazotierung bei der Jodtitration mit verschiedenen Mengen Nitrit (0,2 Mol bis 3,5 Mol pro Mol Salvarsan) diazotiert wurden. Die Reaktionen waren positiv bis zur Diazotierung mit 3 Mol Nitrit, negativ bei 3,5 Mol Nitrit.

Daraus geht hervor, dass bei Diazotierung von Salvarsan bis zur Reaktion auf Kaliumjodidstärkepapier kein unverändertes Salvarsan, kein nicht diazotiertes Amino-oxy-phenylarsinoxyd und keine nicht diazotierte

Amino-oxy-phenylarsinsäure in der Lösung sein kann (bzw. die Mengen bei Berücksichtigung der Empfindlichkeit der Reaktionen unter 1% der angewandten Salvarsanmenge liegen).

Der Versuch, die bei der Diazotierung von Salvarsan entstehenden Reaktionsprodukte durch Isolierung oder Überführung in Derivate zu identifizieren, schien wenig erfolgversprechend. Wir trachteten daher, auf indirektem Wege weitere Anhaltspunkte zu gewinnen, indem wir das Verhalten der Amino-oxy-phenylarsinsäure und des Amino-oxy-phenylarsinoxydes bei der Diazotierung untersuchten.

### Diazotierung der 3-Amino-4-oxy-phenylarsinsäure.

Diese Verbindung stellten wir aus p-Chloranilin her, das wir nach *Bart*<sup>1)</sup> in bekannter Weise durch Diazotieren und Eintragen in alkalische Arsenitlösung in die 4-Chlor-phenylarsinsäure überführten. Dieses Produkt wurde nach den Angaben von *Ismailski* und *Ssimonow*<sup>2)</sup> mit Kaliumnitrat in Schwefelsäure nitriert und durch Verkochen in 40-proz. Kaliumhydroxyd bei 85° die 4-Oxy-3-nitro-phenylarsinsäure gewonnen. Über die Reduktion der Nitroverbindung in saurer und alkalischer Lösung mit allen möglichen Reduktionsmitteln besteht eine grössere Anzahl von Patenten und Literaturangaben. Aber alle diese Vorschriften besitzen wesentliche Nachteile, wie dies auch aus den Angaben des D.R.P. 592870<sup>3)</sup> hervorgeht. Wir wählten die Reduktion in salzsaurer Lösung mit Eisen, die zwar den Nachteil hat, dass bei der Neutralisation nach beendeter Reduktion zur Abscheidung der freien Amino-oxy-phenylarsinsäure gleichzeitig Eisenionen ausgefällt werden und die gewonnene Verbindung nur sehr schwer von den Verunreinigungen zu befreien ist.

Wir fanden aber, dass die neutrale Abscheidung aus der eisenhaltigen Lösung umgangen werden kann, indem beim Abkühlenlassen der Lösung nach beendeter Reduktion und Abtrennung des unangegriffenen Eisens das Chlorhydrat der Amino-oxy-phenylarsinsäure ohne weiteres in weissen verfilzten Nadeln auskrystallisiert und abgesaugt werden kann. Auf diese Weise erhält man ein genügend reines Produkt in einer Ausbeute von über 90%.

Zu 40 g 3-Nitro-4-oxyphenylarsinsäure, suspendiert in 135 cm<sup>3</sup> Wasser und 114 cm<sup>3</sup> HCl spez. Gewicht 1,19 werden bei anfänglich 50° nach und nach 30 g Eisenfeile in der Weise zugegeben, dass die rasch auf 90° steigende Temperatur zwischen 85 und 90° bleibt. Nach Beendigung der Zugabe wird weiter gerührt, bis die Temperatur auf 60° gesunken ist, sodann vom unangegriffenen Eisen abfiltriert und das Filtrat auf 0° gekühlt. Das ausgeschiedene Chlorhydrat der 3-Amino-4-oxy-phenylarsinsäure wird abgesogen, vorsichtig mit 5-proz. Salzsäure, mit Alkohol und Äther gewaschen. Die Verbindung krystallisiert mit 2 Molekeln Wasser.

Die 3-Amino-4-oxy-phenylarsinsäure lässt sich in normaler Weise in salzsaurer Lösung mit Nitrit diazotieren. Die Diazolösung ist gelb, in konzentrierter Lösung fällt das Diazo-oxyd grob krystallin aus, während es in 1-proz. Lösung (d. h. in Konzentrationen, welche bei der Diazotierung des Salvarsans angewandt wurden) gelöst bleibt, auch beim Alkalisieren. Beim Stehen an der Luft färbt sich die

<sup>1)</sup> *Bart*, A. 429, 86 (1922).

<sup>2)</sup> *Ismailski* und *Ssimonow*, C. 1934, II, 3503.

<sup>3)</sup> *Frdl.* 20, 822.

Lösung im Laufe einiger Stunden rot. Sie kuppelt nur mit leicht kuppelnden Komponenten. Die Verbindung kann auch in neutraler Lösung bei Gegenwart eines Moles Zinksalz diazotiert werden.

### Diazotierung des 3-Amino-4-oxy-phenylarsinoxydes.

Wir stellten diese Verbindung aus der 3-Amino-4-oxy-phenylarsinsäure durch Reduktion mit Schwefeldioxyd in Gegenwart von Kaliumjodid nach den Angaben von *Ehrlich* und *Bertheim*<sup>1)</sup> her. Die Phenylarsinsäure wird durch Kaliumjodid bzw. Jodwasserstoff zum Phenylarsinoxyd reduziert; das Gleichgewicht der Reaktion liegt jedoch ganz auf der Seite der Arsinsäure, so dass durch fortlaufende Reduktion des entstandenen Jodes durch Schwefeldioxyd die vollständige Umsetzung der Arsinsäure herbeigeführt werden muss.

3 g 3-Amino-4-oxy-phenylarsinsäure-chlorhydrat werden in 22 cm<sup>3</sup> Wasser und 5,8 cm<sup>3</sup> HCl spez. Gewicht 1,19 gelöst, 0,5 g KJ zugefügt und in mässigem Strome Schwefeldioxyd bei Zimmertemperatur bis zur Sättigung eingeleitet. Unter Kühlen und Rühren wird bis zur Alkalität gegen Lackmus mit konz. Ammoniak tropfenweise versetzt, 11 g Kochsalz zugefügt, nach längerem Rühren abgesogen und im Vakuum getrocknet.

Das so gewonnene Phenylarsinoxyd ist stark mit Kochsalz verunreinigt. Die Reindarstellung dieser Verbindung stösst aber wegen ihrer Empfindlichkeit und der ungünstigen Lösungsverhältnisse auf Schwierigkeiten. Für unsere Untersuchungen störte jedoch eine Beimengung von Kochsalz nicht, so dass wir uns darauf beschränkten, durch sorgfältiges Nachwaschen mit Kochsalzlösung das Ammoniumsulfid, welches bei der Titration mit Jod stören konnte, zu entfernen. Die Titration mit Jod ergab eine Reinheit des weissen bis schwach rötlichen Produktes von 95%. Reaktion mit Bariumchlorid nach vorgängiger Oxydation mit Wasserstoffperoxyd negativ.

Das 3-Amino-4-oxy-phenylarsinoxyd kann in salzsaurer Lösung mit 1,5 Mol Nitrit pro Mol Phenylarsinoxyd versetzt werden, bis Reaktion auf Kaliumjodidstärkepapier eintritt, was eine Oxydation des dreiwertigen Arsens wahrscheinlich machte. In 1-proz. Lösung entsteht dabei keine Fällung. Die gelbe Lösung kuppelt nur mit leicht kuppelnden Komponenten.

Wir titrierten vier Proben mit Jod, die nach folgendem Schema diazotiert worden waren:

0,042 g Amino-oxy-phenylarsinoxyd 95-proz. ( $2 \times 10^{-4}$  Mol) wurden in 4 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst, 0,5 cm<sup>3</sup> n. HCl zugefügt, die Lösung auf 0–3° abgekühlt und 0–0,28 cm<sup>3</sup> n. NaNO<sub>2</sub> zugetropft. Die Lösung wurde anschliessend unter Zugabe von Stärkelösung mit 0,1-n. Jod titriert. Die Resultate sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Tabelle 2.

Mole NaNO <sub>2</sub> pro Mol Phenylarsinoxyd	J <sub>2</sub> -Verbrauch cm <sup>3</sup> 0,1-n.
0,0	3,77
0,5	3,24
1,0	2,83
1,2	2,30
1,4	1,83

<sup>1)</sup> *Ehrlich* und *Bertheim*, B. 45, 759 (1912); D.R.P. 235 391, Frdl. 10, 1243.

Aus diesen Zahlen geht hervor, dass das Phenylarsin-oxyd bei der Diazotierung an der Arsenogruppe oxydiert wird. Bemerkenswert ist, dass bei Eintritt der Reaktion auf Kaliumjodidstärkepapier nicht die Gesamtmenge zur Phenylarsinsäure oxydiert ist, sondern dass sich offenbar ein Gleichgewicht einstellt.

Beim Salvarsan entsteht, wie erwähnt, bei Diazotierung in 1-proz. Lösung ein gelblicher flockiger Niederschlag. Da dies bei der Amino-oxy-phenylarsinsäure, dem Amino-oxy-phenylarsinoxyd und ihrem Gemisch bei dieser Konzentration nicht der Fall ist, konnten in diesem Niederschlag nur diazotiertes bzw. tetrazotiertes Salvarsan und an der Amino-oxygruppierung veränderte Derivate bzw. Abbauprodukte des Salvarsans vorliegen. Zur Untersuchung trennten wir daher den schlecht filtrierbaren Niederschlag durch Zentrifugieren ab, der zweimal durch Aufnehmen in verdünnter Salzsäure und Zentrifugieren gewaschen wurde. Wir stellten folgendes fest:

Die Niederschlagsmenge ist bei Diazotierung mit 3,5 Mol Nitrit pro Mol Salvarsan kleiner als bei Diazotierung mit 2 Mol. (Trocknen im Vakuum und wägen.) Der Niederschlag löst sich in verdünnter und konzentrierter Salzsäure kaum, dagegen nach Zugabe von Bichromat (Rotfärbung). Er löst sich in Soda und Lauge. Mit Resorcin kuppelt er nicht oder nur schwach. In saurer Lösung verbraucht er Jod und geht dabei zum grössten Teil in Lösung. Der Jodverbrauch ist bei Diazotierung mit 3,5 Mol Nitrit auch relativ kleiner als bei Diazotierung mit 2 Mol Nitrit.

Aus diesen Tatsachen geht hervor, dass im Niederschlag ein Gemisch von Verbindungen vorliegen muss, die zum Teil dreiwertiges, zum Teil fünfwertiges Arsen enthalten und nicht kuppeln. In der Hauptsache dürften es also an der Amino-oxygruppierung veränderte Derivate und Abbauprodukte sein.

Die vom Niederschlag befreite Lösung kuppelt sofort mit Resorcin. Der Jodverbrauch ist ebenfalls von der angewandten Nitritmenge abhängig. Versetzt man die niederschlagsfreie Lösung mit sodaalkalischem Resorcin, so fällt beim Ansäuern mit Salzsäure ein rotbrauner Niederschlag aus. Wird dieses Kupplungsprodukt durch Zentrifugieren abgetrennt, so verbraucht die verbleibende Lösung 20% weniger Jod als vor der Kupplung.

Somit muss auch in der Lösung ein Gemisch von Verbindungen vorliegen. Es befinden sich darin kuppelnde Verbindungen mit dreiwertigem Arsen.

Diazotiert man eine Salvarsanlösung mit 2 Mol Nitrit, kuppelt sodaalkalisch mit Resorcin, säuert an und entfernt den Niederschlag, so kann das Filtrat noch weiter mit 4 Mol Nitrit (total also 6 statt 3,8)

versetzt werden, bis Reaktion auf Kaliumjodidstärkepapier eintritt. Dies lässt sich durch Annahme der Einstellung eines Gleichgewichtes bei der Diazotierung erklären.

Wir verzichten darauf, über diese und weitere durchgeführte quantitative Kupplungs- und Titrationsuntersuchungen genauere Angaben zu machen, da die Zahlenresultate stark von den angewandten Nitritmengen und anderen Versuchsbedingungen abhängen und keine sicheren quantitativen Schlüsse ermöglichen.

*Remy*<sup>1)</sup> gibt an, einen Farbstoff aus diazotiertem Neosalvarsan und Resorcin krystallisiert erhalten zu haben. Wir versuchten ebenfalls, diesen Farbstoff herzustellen, Nun sind schon in den Angaben *Remy's* einige Unkorrektheiten, indem er z. B. offenbar mit dem Molekulargewicht des mono-methylensulfoxylsauren Natriums des Salvarsans rechnet. Neosalvarsan ist aber ein Gemisch, wie schon aus dem Arsengehalt hervorgeht, der statt 32% nur 18,5 bis 19,5% beträgt. Nach den Angaben wird der Farbstoff durch sorgfältige Alkoholzugabe aus der Kupplungslösung gefällt. Alkohol ergibt aber auch in nicht diazotierten Lösungen und in solchen ohne Komponente eine Fällung. Bis zur Reaktion auf Kaliumjodidstärkepapier können ca. 7 Mol Nitrit zugegeben werden. Es gelang uns nicht, den Farbstoff herzustellen, und es erscheint uns bei Berücksichtigung der Verhältnisse bei der Diazotierung des Salvarsans und der noch grösseren Oxydierbarkeit des Neosalvarsans verwunderlich, dass *Remy* auf diese Weise einen krystallisierten Farbstoff erhielt.

Zusammenfassend lässt sich also für das Salvarsan feststellen, dass bei der Diazotierung einer salzsauren Lösung sofort Oxydation an der Arsenogruppe einsetzt. Auch die Amino-oxygruppierung unterliegt sehr wahrscheinlich einer Oxydation. Es entsteht ein Gemisch von kuppelnden und nicht kuppelnden Verbindungen mit dreiwertigem und fünfwertigem Arsen. Auch bei Diazotierung bis zur Reaktion auf Kaliumjodidstärkepapier sind noch Verbindungen mit dreiwertigem Arsen vorhanden. Die Zusammensetzung des Gemisches ist von den Versuchsbedingungen stark abhängig. Ob darin auch diazotiertes bzw. tetrazotiertes Salvarsan enthalten ist, kann nicht entschieden werden. Es ist somit nicht korrekt, von diazotiertem Salvarsan zu sprechen.

Was nun die eingangs erwähnten Untersuchungen von *Haxthausen* betrifft, so waren durch die Tatsache, dass bei der „Diazotierung“ von Salvarsan ein nicht genau bestimmtes Gemisch von Verbindungen entsteht, die nötigen Voraussetzungen für ihre Übertragung auf das Tier und ihre Einbeziehung in die Untersuchungen über das Neutralisationsphänomen nicht mehr vorhanden, da ihre Ausführung nur mit chemisch definierten Substanzen einen Sinn hatte. *Haxthausen* macht keine Angaben über die Art der „Diazotierung“ des Salvarsans in seinen Versuchen. Interessehalber sei jedoch erwähnt, dass er nach Sensibilisierung mit „diazotiertem“ Salvarsan Hautreaktionen nicht nur mit Salvarsan, sondern auch mit Arsanilsäure und Natrium-p-phenylarseniat auslösen konnte.

<sup>1)</sup> *Remy*, Bioch. Z. **137**, 133 (1923).



Wir versuchten auch, „diazotiertes“ Salvarsan und diazotierte Amino-oxy-phenylarsinsäure mit Pferdeserum und Tyrosin zu kupfeln. Es gelang jedoch nicht, nach der für Atoxyl, Sulfanilsäure und andere Verbindungen anwendbaren Methode, Azoproteine zu gewinnen. Die Kupplung wurde in sodaalkalischer und essigsaurer Lösung versucht, ferner mit Magnesia, Kalk und Baryt als säurebindenden Mitteln.

Die Untersuchungen wurden durch einen Beitrag aus der *Eidgenössischen Volkswirtschaftsstiftung E. T. H.* unterstützt.

---

## II. Anaphylaktisierung und Anaphylaxieauslösung mit Oleyl-N-methyl-taurin.

---

Bis vor kurzer Zeit stand man auf dem Standpunkt: ohne Eiweiss keine Anaphylaxie und keine anaphylaktoiden Erscheinungen. Wohl zeigten die Haptenuntersuchungen *Landsteiner's*<sup>1)</sup>, dass für die Spezifität der anaphylaktischen Reaktion das Eiweiss nicht massgebend ist, wohl gelang es, ohne Eiweiss anaphylaktische Reaktionsfähigkeit aufzuheben (Neutralisation), aber zum Anaphylaktisieren und zum Schock-Auslösen erschien Eiweiss immer noch ein unbedingtes Erfordernis. Überall dort, wo es bei anaphylaktoiden Reaktionen den Anschein hatte, dass Eiweiss keine Rolle spiele, nahm man nach *Wolff-Eisner*<sup>2)</sup> an, dass sich im Organismus Eiweissverbindungen bilden und dass diese Eiweissverbindungen für die anaphylaktoiden Phänomene verantwortlich zu machen seien. Dass die *Wolff-Eisner's*che Hypothese zutreffen kann, haben die Tierversuche von *Klopstock* und *Seller*<sup>3)</sup>, *Landsteiner* und *Jacobs*<sup>4)</sup>, *Fierz*, *W. Jadassohn* und *Stoll*<sup>5)</sup> bewiesen.

Was die Auslösung anaphylaktischer und anaphylaktoider Reaktionen anbetrifft, ist zu sagen, dass es eine Anzahl von Beobachtungen gibt, die dafür sprechen, dass Eiweiss kein unbedingtes Erfordernis ist. So gelang die Auslösung einer anaphylaktischen Reaktion mit eiweissfreien bzw. sehr eiweissarmen kohlehydrathaltigen

---

<sup>1)</sup> *Landsteiner*, The Specificity of Serological Reactions (Thomas, Baltimore 1936).

<sup>2)</sup> *Wolff-Eisner*, Dermat. Zentr. **1907**, 10.

<sup>3)</sup> *Klopstock* und *Seller*, Klin. Wochschr. **6**, 1662 (1927).

<sup>4)</sup> *Landsteiner* und *Jacobs*, J. Expl. Med. **61**, 634 (1936).

<sup>5)</sup> *Fierz*, *W. Jadassohn* und *Stoll*, J. Expl. Med. **65**, 339 (1937).

Fraktionen von Mikroorganismenprodukten. (*Tomcsik* und *Kurotchkin*<sup>1)</sup>, *Bacillus lactis aerogenes*, Pneumobacillen, Hefen; *Lancefield*<sup>2)</sup>, Streptokokken; *Kesten* und *Mott*<sup>3)</sup>, Hefen; *Enders*<sup>4)</sup>, Tuberkelbacillen; *W. Jadassohn*, *Schaaf* und Mitarbeiter<sup>5)</sup>, Trichophytipilze, Brucellen, Tuberkelbacillen; *Goebel* und *Avery*<sup>6)</sup>, Pneumokokken; *Avery* und *Tillett*<sup>7)</sup>, Pneumokokken; *Morgan*<sup>8)</sup>, Pneumokokken).

Hier sei auch noch die Auslösung urticarieller Reaktionen beim Menschen erwähnt, da wir ja mit immer grösser werdender Berechtigung urticarielle und anaphylaktische Antigen-Antikörperreaktionen identifizieren dürfen. Die Dialysierversuche von *W. Jadassohn* und *Schaaf*<sup>9)</sup> u. a. sprechen trotz aller erhobenen Einwände dafür, dass bei urticarieller Überempfindlichkeit zur Auslösung der Reaktion Eiweiss nicht notwendig ist.

Sowohl bei den zuerst erwähnten Versuchen mit bakteriellen Produkten als bei den Urticariaversuchen handelt es sich, das muss betont werden, nicht um chemisch einheitliche und einwandfrei bekannte Substanzen. *Landsteiner* und *van der Scheer*<sup>10)</sup> konnten hingegen mit chemisch bekannten Substanzen, einem Disazofarbstoff, d. i. p-Succinyl-aminophenyl-azo-resorcin-azo-succinyl-amino-phenyl (Formel vgl. S. 300) und dem entsprechenden Disazofarbstoff aus dem Suberylderivat, den anaphylaktischen Schock auslösen. Während es *Fierz*, *W. Jadassohn* und *Zürcher*<sup>11)</sup> im *Schultz-Dale*'schen Versuch bis jetzt nicht gelang, dieses mit dem klassischen Anaphylaxie-Experiment (Schock) gewonnene Resultat am isolierten Uterus des anaphylaktisierten Tieres zu bestätigen, ist dies *Landsteiner* und *van der Scheer*<sup>12)</sup> jetzt gelungen. Worauf dieser Unterschied beruht, ist noch nicht festgestellt. Wir haben gefunden, dass das von *Landsteiner* verwendete p-Succinyl-aminophenyl-azo-resorcin-azo-p-succinyl-amino-phenyl in vitro mit R-Salz (2-Naphthol-3,6-disulfosäure) und auch mit H-Säure (1,8-Aminonaphthol-3,6-disulfosäure) umkuppeln kann, und dies liess uns vermuten, dass eine Umkuppelung in vivo mit dem Meerschweinchen-Eiweiss stattfinden könnte (eventuell mit dem

<sup>1)</sup> *Tomcsik* und *Kurotchkin*, J. Expl. Med. **47**, 379 (1928).

<sup>2)</sup> *Lancefield*, J. Expl. Med. **47**, 843, 857 (1928).

<sup>3)</sup> *Kesten* und *Mott*, J. Expl. Med. **53**, 803 (1931).

<sup>4)</sup> *Enders*, J. Expl. Med. **50**, 777 (1929).

<sup>5)</sup> *W. Jadassohn*, *Schaaf* und *Sulzberger*, Klin. Wochschr. **20**, 857 (1932); *W. Jadassohn*, *Riedmüller* und *Schaaf*, Klin. Wochschr. **24**, 879 (1934); *Bucher*, *W. Jadassohn* und *Schaaf*, Z. Immunitätsf. **76**, 241 (1932).

<sup>6)</sup> *Goebel* und *Avery*, J. Expl. Med. **49**, 283 (1929).

<sup>7)</sup> *Avery* und *Tillett*, J. Expl. Med. **49**, 251 (1929).

<sup>8)</sup> *Morgan*, Brit. J. Expl. Path. **13**, 342 (1932).

<sup>9)</sup> *W. Jadassohn* und *Schaaf*, Z. Immunitätsf. **79**, 407 (1933).

<sup>10)</sup> *Landsteiner* und *van der Scheer*, J. Expl. Med. **56**, 399 (1932); **57**, 633 (1933).

<sup>11)</sup> *Fierz*, *W. Jadassohn* und *Zürcher*, Helv. **20**, 16 (1937).

<sup>12)</sup> *Landsteiner* und *van der Scheer*, J. Expl. Med. **67**, 79 (1938).

Eiweiss des überlebenden Uterus). Wir wollen vor Beibringung von neuem Tatsachenmaterial auf die für und gegen diese Umkupplungsannahme sprechenden Momente nicht näher eingehen.

Auf jeden Fall ergibt sich aus dem Angeführten, dass das Dogma der unbedingten Notwendigkeit von Eiweiss zur Auslösung von anaphylaktischen und anaphylaktoiden Reaktionen schwer erschüttert ist, wenn auch augenscheinlich dem Eiweiss unter Umständen für die Auslösung solcher Reaktionen eine grosse Bedeutung zukommt (z. B. Atoxyl-azo-naphthol löst nicht aus, wird das Naphthol durch Eiweiss ersetzt, so löst die Verbindung Anaphylaxie aus).

Viel weniger zahlreich sind Versuche, mit eiweissfreien Substanzen zu anaphylaktisieren. *Fierz, W. Jadassohn* und *Zürcher*<sup>1)</sup> haben mit dem p-Succinyl-aminophenyl-azo-resorcin-azo-p-succinyl-aminophenyl-Farbstoff von *Landsteiner* und *van der Scheer*<sup>2)</sup> zu anaphylaktisieren versucht. Die Tiere erwiesen sich auch als anaphylaktisiert, aber es gelang nur mit dem entsprechenden Protein positiven *Schultz-Dale*'schen Versuch auszulösen und bei der Möglichkeit, dass dieser Farbstoff in vivo mit Eiweiss umkuppelt, sind diese Versuche für die hier interessierende Frage unbrauchbar. *W. Jadassohn, Schaaf* und Mitarbeiter<sup>3)</sup> haben mit Trocken-Trichophytinen, Trocken-Tuberkulinen und Trocken-Brucellinen (hergestellt nach *Bloch, Labouchère* und *Schaaf*<sup>4)</sup>) nicht nur Anaphylaxie auslösen können, sondern sie konnten auch anaphylaktisieren. Die Annahme, dass in diesen Fällen noch Spuren von Eiweiss für die Anaphylaktisierung verantwortlich sind, ist nicht wahrscheinlich. Die Trocken-Mikrobine enthalten die wasserlöslichen aber alkoholunlöslichen Bestandteile aus den Mikroben bzw. ihren Stoffwechselprodukten. Sie ergeben eine sehr starke *Molisch*-Reaktion, enthalten also reichlich Kohlehydrate. Im Trocken-Trichophytin, das speziell untersucht wurde, lässt sich Eiweiss mit den gewöhnlichen Methoden nicht nachweisen, es gelingt dies erst mit einer speziell zu diesem Zweck sehr verfeinerten Sulfosalicylsäureprobe. *W. Jadassohn* und *Schaaf*<sup>5)</sup> haben Trocken-Trichophytin der Gleitdialyse unterworfen. Das dialysierte Produkt löste auch noch anaphylaktische Reaktionen aus, dagegen ist es mit ihm nicht gelungen, zu anaphylaktisieren. Es verhält sich also wie die von *Goebel* und *Avery*<sup>6)</sup> isolierten Präparate.

Wenn man nicht annehmen will, dass es die Ausschaltung der minimalen Spuren von Eiweiss ist, welche dazu führt, dass das dialy-

<sup>1)</sup> *Fierz, W. Jadassohn* und *Zürcher*, Helv. **20**, 16 (1937).

<sup>2)</sup> *Landsteiner* und *van der Scheer*, J. Expl. Med. **56**, 399 (1932), **57**, 633 (1933).

<sup>3)</sup> *W. Jadassohn, Schaaf* und *Sulzberger*, Klin. Wochschr. **20**, 857 (1932); *W. Jadassohn, Riedmüller* und *Schaaf*, Klin. Wochschr. **24**, 879 (1934); *Bucher, W. Jadassohn* und *Schaaf*, Z. Immunitätsf. **76**, 241 (1932).

<sup>4)</sup> *Bloch, Labouchère* und *Schaaf*, Arch. Dermat. Syph. **148**, 413 (1925).

<sup>5)</sup> *W. Jadassohn* und *Schaaf*, Klin. Wochschr. **30**, 1170 (1933).

<sup>6)</sup> *Goebel* und *Avery*, J. Expl. Med. **49**, 283 (1929).

sierte Trocken-Trichophytin nicht mehr anaphylaktisierte, so muss man annehmen, dass bei der Dialyse eine andere Substanz im Rückstand zurückbleibt, die für die Anaphylaktisierung mitverantwortlich ist. Die Untersuchungen von *Boivin* und *Mesrobianu*<sup>1)</sup>, ferner diejenigen von *Raistrick* und *Topley*<sup>2)</sup> und *Chargaff* und *Schaefer*<sup>3)</sup> geben einen Hinweis, zu welcher Gruppe von Substanzen dieser, die Anaphylaktisierung ermöglichende Stoff gehören könnte. Bei diesen Untersuchungen handelt es sich allerdings nicht um Anaphylaxieversuche, doch erwiesen sich die aus Bakterien hergestellten Substanzen dieser Autoren als Vollantigene in bezug auf Immunisierung, Präcipitin- und Agglutininbildung. Sie enthalten Kohlehydrate vom Typus der Glucuronsäure und Galakturonsäure u. a. Daneben findet man Phosphorsäure und Fettsäuren mit niedriger Jodzahl. Die Verbindungen sind sehr unbeständig. Bei schwach saurer Hydrolyse, z. B. mit verdünnter Essigsäure, sollen freie, feste, höhermolekulare Fettsäuren und verseifbare Verbindungen ausfallen<sup>4)</sup>. Dabei verlieren die Substanzen die Fähigkeit, als Vollantigene zu wirken, so dass man den Schluss ziehen kann, dass höhere Fettsäuren notwendig sind, um mit Polysacchariden das Vollantigen zu bilden. Welche Rolle die Phosphorsäure dabei spielt, kann nur vermutet werden; sie kann als löslichmachende Gruppe vorhanden sein. Dass die analytisch gefundenen Werte innerhalb ziemlich weiter Grenzen schwanken, wird bei der komplexen und instabilen Natur derartiger Verbindungen weiter nicht überraschen. Obschon *Heidelberger* und *Kendall*<sup>5)</sup> gezeigt haben, dass das Molekulargewicht aktiver Kohlehydrate verhältnismässig hoch ist (es kann zwischen 1000 und 5600 variieren), so ergeben doch die Untersuchungen von *W. Jadassohn* und *Schaaf*<sup>6)</sup>, dass der anaphylaxie-auslösende Teil des Trichophytins dialysierbar ist. Man muss daraus den Schluss ziehen, dass das Molekulargewicht derartiger Verbindungen relativ klein sein kann. Es erhebt sich die Frage, ob durch blosse Abspaltung einer höheren „Fettsäure“ die anaphylaktisierende Wirkung verloren geht.

Es scheint daher erlaubt, sich ein Bild von einer eiweissfreien anaphylaktisierenden Substanz zu machen. Unter Berücksichtigung der *Landsteiner*'schen Feststellungen kann ein Modell einer solchen Substanz hergestellt werden. Es ist nötig, ein Hapten zu wählen, welches mit einer „Schiene“ verbunden ist, im vorliegenden Fall

1) *Boivin* und *Mesrobianu*, C. r. Soc. biol. 1934—35, C. r. Acad. Sci. 1934, Arch. Roumain Path. **8**, 45 (1935).

2) *Raistrick* und *Topley*, Brit. J. Expl. Path. **15**, 113 (1934).

3) *Chargaff* und *Schaefer*, J. Biol. Chem. **109**, XIX (1935), Ann. Past. **54**, 708 (1935).

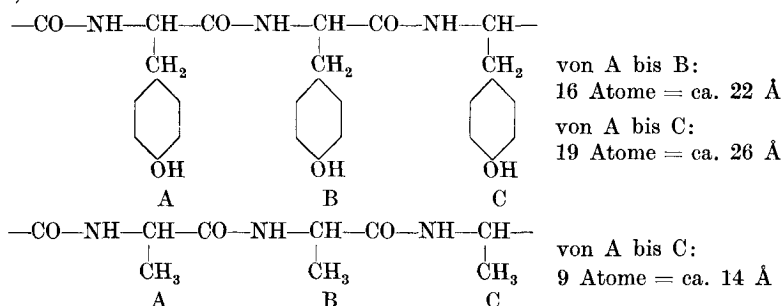
4) Es mag zwar fraglich erscheinen, ob derartige Substanzen einfach freie Fettsäuren sind, da sie in der Wärme (Wasserbadtemperatur) fest sein sollen. Sie sind löslich in Äther.

5) *Heidelberger* und *Kendall*, J. Biol. Chem. **96**, 541 (1932).

6) *W. Jadassohn* und *Schaaf*, Klin. Wochschr. **30**, 1170 (1933).

mit einer höheren Fettsäure. Andererseits muss ein derartiges künstlich hergestelltes Vollantigen leicht löslich und gegen Calciumsalze unempfindlich (nicht fällbar) sein. Ferner muss man von einem derartigen Gebilde verlangen, dass es beständig gegen chemische Einflüsse sei. Ob das Hapten nun ein Polysaccharid oder irgend eine andere chemisch definierte Verbindung sei, ist nach den Ergebnissen *Landsteiner's* irrelevant. Des weitern ergibt sich folgende wichtige Frage: Besteht eine Beziehung zwischen der chemischen Konstitution der Eiweissmolekel und einer höheren Fettsäure, die als „Schiene“ an die Stelle des hochmolekularen Eiweisses treten kann?

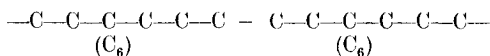
Die Aufklärung der Konstitution der Eiweisskörper ist in den letzten Jahren sehr gefördert worden. Wir wissen, dass das Molekulargewicht der Eiweissmolekeln in den meisten Fällen 34500 oder ein Vielfaches davon beträgt (1, 2, 3 und 6 mal). Ferner ist es sehr wahrscheinlich, dass die Eiweisskörper nicht regellos aus Polypeptidketten aufgebaut sind, sondern dass sich die Aminosäuren in den Makromolekeln regelmässig (periodisch) wiederholen (wir verweisen in diesem Zusammenhang auf die Publikation von *Grassmann*<sup>1)</sup>). Es ist ferner gefunden worden, dass sich in der langen Polypeptidkette sehr oft die gleichen Aminosäuren folgen. Es fragt sich nun, ob die in der Eiweissmolekel vorhandenen Perioden, bzw. deren Länge in einem kausalen Zusammenhang mit der Molekellänge jener Verbindungen stehen, welche Anaphylaxie erzeugen können. Wenn man die Ergebnisse der jüngsten Eiweissforschung in Berücksichtigung zieht und sich vorstellt, dass in einer Eiweissmolekel z. B. die Tyrosinmolekel oder die Glycinmolekel sich mehrmals hintereinander regelmässig folgen, so kann man ohne weiteres zeigen, dass die Periodenlänge vom einen Ende zum andern Ende der Periode eine ganz bestimmte Dimension hat. Wir bezeichnen als Länge einer Periode die Distanz, die man auf Grund der chemischen Formel, wie unten angegeben, abzählen kann:



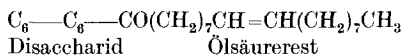
Es sei zugegeben, dass eine derartige Voraussetzung vorerst willkürlich erscheint, aber sie diene als Grundlage unserer chemischen Überlegungen.

<sup>1)</sup> *Grassmann*, Z. angew. Ch. 1937, 65.

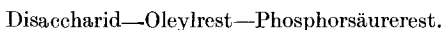
Die anaphylaktisierenden kohlehydrathaltigen Präparate können als chemische Verbindungen aufgefasst werden, in denen ein Hapten und eine „Schiene“ vorhanden sind. Die Schiene wäre eine höhere Fettsäure, das Hapten das Kohlehydrat. Diese Kohlehydrate scheinen aus Disaccharidmolekeln aufgebaut zu sein, die man also schematisch wie folgt schreiben darf:



An dieses Hapten ist die „Schiene“, d. h. die höhere Fettsäure angehängt. Ein derartiges hypothetisches Anaphylaktogen hätte demnach folgende schematische Formel:



Damit eine solche Molekel die nötige Wasserlöslichkeit besitzt, ist noch eine Gruppe von Säurecharakter (eventuell eine basische Gruppe) notwendig. In den natürlichen Polysacchariden ist Phosphorsäure nachgewiesen, so dass man das hypothetische Anaphylaktogen wie folgt schreiben kann:

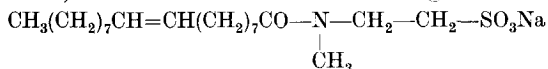


Es ist leicht, die ungefähre Länge einer derartigen hypothetischen Molekel abzuschätzen, unter der Annahme, dass die Distanz von Atomzentrum zu Atomzentrum ungefähr 1,4 Å beträgt. Bei der oben angegebenen Verbindung sieht man ohne weiteres, dass die Länge rund  $(6 + 6 + 18 + 3) \times 1,4$  oder rund 46 Å beträgt. Dabei ist zu bemerken, dass der Ölsäurerest allein rund 25 Å misst.

Das Hapten ist nach *Landsteiner* spezifisch, und es liegen keine Beobachtungen vor, dass die Grösse des Haptens überhaupt eine Rolle bei der Anaphylaxie spielt. Da wir oben angenommen haben, dass unter Umständen die Länge der Perioden, die in der Eiweissmolekel vorhanden sind, in Beziehung zur „Schiennenwirkung“ stehe, dachten wir, dass es vielleicht genüge, wenn die Länge einer künstlichen Schiene nur die Länge einer Periode besitze, oder, wie oben angeführt, ungefähr 25 Å. Der Ölsäurerest erfüllt nun diese Forderung.

Auf Grund dieser vielleicht gewagten Überlegungen haben wir uns gefragt, ob es nicht möglich sei, eine bekannte Substanz zu wählen, welche neben dem Hapten noch eine Säuregruppe und die Ölsäureschiene besitze und die infolge dieser Konstitution befähigt sei, als Anaphylaktogen zu fungieren. Eine derartige Substanz musste überdies gegen chemische Einflüsse relativ beständig sein, damit die Gefahr der Umsetzung mit dem Eiweiss in vivo ausgeschlossen ist (Umkupplung).

Unter den zahlreichen sich bietenden Möglichkeiten wählten wir das leicht wasserlösliche Oleyl-N-methyl-aurin untenstehender Formel, welches alle Voraussetzungen erfüllt.



Man erkennt ohne weiteres, dass die „Schiene“ durch den Ölsäurerest und das Hapten durch die N-Methyl-aurin-Gruppe repräsentiert wird. Die in den Kohlehydratprodukten nachgewiesene Phosphorsäuregruppe wird hier durch die wasserlöslichmachende Sulfogruppe vertreten.

Wir haben Meerschweinchen mit diesem Taurinderivat sensibilisiert, und in allen Fällen waren die Tiere nach der Sensibilisierungszeit auf das gleiche Taurinderivat anaphylaktisch (*Schultz-Dale'scher Versuch!*).

Das verwendete Oleyl-N-methyl-aurin ist ein aus Alkohol umkrystallisiertes reines Produkt vom Schmelzpunkt 184°. Trotzdem sich mit chemischen Reaktionen darin kein Eiweiss nachweisen lässt (Biuretreaktion, Ninhydrinreaktion, Sulfosalicylsäurereaktion; die Substanz verhindert diese Reaktionen nicht), und trotzdem uns die *I. G. Farbenindustrie* bestätigte, dass das Produkt keinerlei Eiweiss enthalten kann, unterwarfen wir eine 5-proz. Lösung der Gleitdialyse in einem Dialysator nach *Thoms*<sup>1)</sup>, unter Verwendung des Dialysierpapiere *Schleicher & Schüll* No. 446:9. Die Membran wurde nach Beendigung des Versuches mit Nachtblau geprüft.

Zur Anaphylaktisierung verwendeten wir sowohl dialysiertes als auch nicht dialysiertes Taurinderivat. Im ersten Fall benützten wir direkt das Dialysat (nach Gehaltsbestimmung durch Eindampfen im Vakuum bei Zimmertemperatur und nach Zugabe von 7<sup>0</sup>/<sub>100</sub> Kochsalz). Wir anaphylaktisierten Meerschweinchen (220–300 g Gewicht) zum Teil durch zweimalige intraperitoneale Injektion von 1 und 2 cm<sup>3</sup> 0,5-, 0,07- und 0,05-proz. Lösungen, im Abstand von 4 Tagen, zum Teil durch nur einmalige Injektion der genannten Dosen. Der *Schultz-Dale'sche Versuch* wurde bei zweimaliger Sensibilisierung frühestens am 18. Tage nach der ersten Injektion ausgeführt, bei einmaliger Sensibilisierung am 10. und 12. Tag. Bei den mit dialysiertem Oleyl-N-methyl-aurin anaphylaktisierten Tieren lösten wir sowohl mit dialysiertem als auch mit nicht dialysiertem Produkt aus. Als positiv wurde ein Versuch nur gewertet, wenn mit der Auslösung auch Neutralisation erfolgte.

5 mg Oleyl-N-methyl-aurin bewirkten am Uterus unbehandelte Tiere keine Kontraktion.

Von 20 Tieren, die in der genannten Weise vorbehandelt wurden, reagierten bei Auslösung mit 5 mg Taurinderivat 18 Tiere positiv (vgl. Fig. 1 und 2), 2 Versuche waren unbrauchbar, da keine Neutralisation eintrat. Der Versuch, bei 2 Tieren nur mit 1 mg bzw. 2 mg auszulösen, verlief negativ.

Es folgt aus diesen Versuchen, dass Eiweiss zur Anaphylaktisierung keine unbedingte Notwendigkeit ist,

<sup>1)</sup> *Thoms*, B. 50, 1235 (1917); 51, 42 (1918), vgl. auch *W. Jadassohn* und *Schaaf*, Z. Immunitätsf. 79, 409 (1933).

und dass unsere Überlegungen einer Prüfung im Tierversuch standgehalten haben.

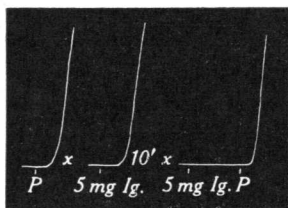


Fig. 1. Meerschweinchen Nr. 73.

2 Mal intraperitoneal vorbehandelt mit 1 cm<sup>3</sup> Oleyl-N-methyl-taurinlösung 0,5-proz. am 1. und 5. Tag.

Schultz-Dale'scher Versuch am 24. Tag nach der 1. Injektion.

Ig = 5 cm<sup>3</sup> Oleyl-N-methyl-taurin (Lösung 1<sup>0</sup>/<sub>100</sub>).

P = Pituglandol.

x = Spülen.

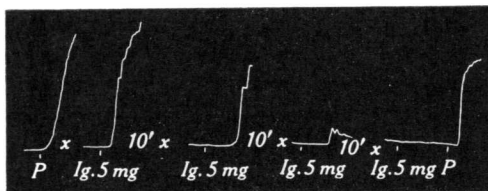


Fig. 2. Meerschweinchen Nr. 81.

1 Mal intraperitoneal vorbehandelt mit 1 cm<sup>3</sup> Oleyl-N-methyl-taurinlösung 0,05-proz.

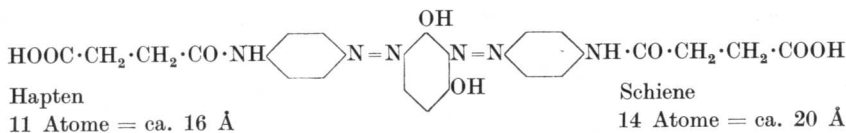
Schultz-Dale'scher Versuch am 12. Tag nach der Injektion.

Ig = 5 cm<sup>3</sup> Oleyl-N-methyl-taurin (Lösung 1<sup>0</sup>/<sub>100</sub>).

P = Pituglandol.

x = Spülen.

Man kann also mit verhältnismässig einfachen Verbindungen anaphylaktisieren. Ob die Überlegungen, die zu diesem Ergebnis geführt haben, in allen Fällen zutreffend sind, können nur weitere Versuche zeigen. Insbesondere ist es nötig, festzustellen, wie lang der Fettsäurerest sein muss, damit eine Anaphylaktisierung mit einer bekannten Substanz erzielt wird. In diesem Zusammenhang weisen wir auf den Disazofarbstoff von Landsteiner und van der Scheer<sup>1)</sup> hin, mit welchem diese beiden Autoren Anaphylaxie auslösen konnten. Bemerkenswert erscheint uns, dass niedrigere Homologe, Malonyl- und Oxalylderivate, keine Schockwirkung zeigten, während dies z. B. beim nachstehenden Farbstoff der Fall war:



<sup>1)</sup> Landsteiner und van der Scheer, J. Expl. Med. **56**, 399 (1932); **57**, 633 (1933).



Man sieht, dass diese Verbindung eine relativ lange Molekel darstellt, welche ungefähr in die Grössenordnung des Oleyl-N-methyl-aurins fällt. Es wäre höchst interessant festzustellen, ob dieser Disazofarbstoff tatsächlich anaphylaktisiert, doch besteht hier die oben angeführte Schwierigkeit (Möglichkeit einer Umkupplung). Ferner müssen weitere Versuche zeigen, ob bei der „Schiene“ die Gruppierung CO—NH ein Erfordernis ist.

#### Schlussbetrachtung.

Es wurde auf Grund der Beobachtungen, die mit kohlehydrathaltigen Mikrobenprodukten durchgeführt wurden, die Hypothese aufgestellt, dass diese Stoffe deswegen anaphylaktisieren, weil sie ein Hapten (Kohlehydrat) enthalten, welches mit einer höheren Fettsäure als „Schiene“ versehen ist. Die Fettsäure würde die Eiweisschiene ersetzen, von der man bis jetzt annahm, dass sie zur Anaphylaktisierung unerlässlich sei. Wenn diese Annahme zutrifft, so müsste z. B. Oleyl-N-methyl-aurin anaphylaktisieren. Das ist tatsächlich der Fall.

Es ist möglich, dass die Ölsäure das Eiweiss als „Schiene“ deswegen ersetzen kann, weil ihre Molekellänge der Länge der Perioden im Eiweiss entspricht. (25 Å.)

Das Hauptresultat dieser Untersuchungen ist aber die Auffindung einer chemisch vollkommen bekannten Substanz, die anaphylaktisiert und Anaphylaxie auslöst. Dadurch, dass die „Schiene“ in dieser Substanz bekannt ist, können jetzt immunbiologische Untersuchungen vorgenommen werden, bei denen die bekannte „Schiene“ in chemisch bekannter Weise verändert wird, was nicht möglich ist, wenn die „Schiene“ Eiweiss ist. Da augenscheinlich Bakterienprodukte analoge „Schienen“ besitzen, so dürften solche Resultate nicht nur für die reine Anaphylaxieforschung, sondern auch für die Immunitätsreaktionen mit solchen Bakterienprodukten als Modellreaktionen von Interesse sein.

#### Zusammenfassung.

Durch intraperitoneale Injektionen von Oleyl-N-methyl-aurin kann man Meerschweinchen anaphylaktisieren. Bei so vorbehandelten Tieren lassen sich mit Oleyl-N-methyl-aurin regelmässig anaphylaktische Reaktionen auslösen (*Schultz-Dale'sche* Versuche).

Die vorliegende Arbeit wurde von der *Eidgenössischen Volkswirtschaftsstiftung E. T. H.*, der Firma *Sandoz* in Basel und der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel unterstützt. Die chemischen Präparate wurden uns in verdankenswerter Weise von der *I. G. Farbenindustrie Aktiengesellschaft*, Frankfurt a/M., zur Verfügung gestellt.

## Lebenslauf.

Ich, *Alfred Margot*, von Ste. Croix, Waadt, wurde am 9. Juni 1909 in Zürich geboren. Ich besuchte die zürcherische Primar- und Sekundarschule und erwarb an der kantonalen Handelsschule in Zürich das Maturitätszeugnis. Nach zweijähriger praktischer Tätigkeit bestand ich im Herbst 1931 die Aufnahmeprüfung an der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich und erhielt nach siebensemestrigem Studium das Diplom als Ingenieur-Chemiker. Anschliessend arbeitete ich unter Leitung von Prof. Dr. H. E. Fierz und P. D. Dr. W. Jadassohn an meiner Promotionsarbeit. Seit 1937 bin ich Assistent am organisch-technischen Institut der E. T. H.

---