XVIII.

Ueber die antiseptische Wirkung von Salicyl-Aldehyd und Benzoësäure-Anhydrid

(Aus dem chemischen Laboratorium des Pathologischen Instituts zu Berlin.)

von

Professor E. Salkowski.

In einer kürzlich erschienenen Abhandlung[1]) „Ueber die Wirkung der ätherischen Oele auf Pilze" hat Th. Bokorny u. A. auch (l. c. S. 563) Salicylaldehyd in Betracht gezogen.

Bokorny sagt von demselben: „Hingegen ist Salicylaldehyd ein sehr wirksames Pilzgift; binnen acht Tagen tritt bei 0,1 pCt. Salicylaldehyd keine Fäulniss und keine Schimmelbildung in entsprechenden Nährsubstanzen auf; Schimmelbildung unterbleibt sogar bei 0,02 pCt. Da die Salicylsäure zwar bei 0,1 pCt. noch die Verpilzung unterdrückt, bei 0,02 pCt. aber Schimmelbildung zulässt (nach Versuchen von mir)[2]), so ist der Salicylaldehyd als stärker giftig zu erachten, wie die so viel gebrauchte Salicylsäure; man sieht den Einfluss der Aldehyd-Gruppe."

Was die Versuche betrifft, auf welche sich die Schlussfolgerungen stützen, so war die Anordnung derselben im Allgemeinen folgende. Die angewendeten Nährlösungen enthielten 0,5 pCt. Pepton, 0,25 pCt. weinsaures Ammoniak, 0,05 pCt. Dikaliumphosphat (K_2HPO_4), 0,01 pCt. Magnesiumsulfat. Zur Herstellung der Lösung war statt Wasser die wässrige Lösung des betreffenden Oels, bezw. Aldehyds etc. angewendet, es war dabei oft nöthig, das betreffende Oel erst in wenig Alkohol zu lösen und die Lösung in Wasser zu giessen, da sich auf anderem Wege eine Lösung nicht herstellen liess. Handelte es sich um

[1]) Pflüger's Arch. Bd. 73 S. 555—595.

[2]) d. h. Bokorny.

die Beobachtung der Schimmelpilz-Bildung, so wurde ausserdem „noch 0,5 pCt. freie organische Säure (Weinsäure und Citronensäure) beigemischt zur Unterdrückung der Bakterien.“ Die Nährlösungen wurden dann sich selbst, d. h. der spontanen Aussaat überlassen. In manchen Fällen ist auch angegeben, dass die Nährlösungen mit Bakterien, bezw. Schimmelpilzen (Mucor und Penicillium) geimpft wurden. Als Kriterium der Entwickelung von Bakterien diente der Eintritt „stinkender Gährung.“

Ich habe nun schon wiederholt auf die stark antiseptische Wirkung des Salicylaldehyds aufmerksam gemacht, zuerst in einer Mittheilung über das Benzoësäure-Anhydrid[1]), dann bei Gelegenheit meiner Arbeit über die Wirkung der Antiseptica auf Toxine. Keineswegs will ich nun Bokorny einen Vorwurf daraus machen, dass er diese Angaben nicht berücksichtigt hat — er hat sie augenscheinlich nicht gekannt, da ihm die betreffende Literatur fern liegt, dagegen möchte ich die Versuche mittheilen, auf welche sich meine damaligen Angaben stützen, umsomehr, als die Resultate in einigen Punkten übereinstimmen, in anderen dagegen abweichen, und ich an die Mittheilung der Resultate auch einige allgemeine Bemerkungen zu knüpfen habe.

Die Versuchs-Anordnung war folgende.

Den Ausgangspunkt bildete eine 10 pCtige alkoholische Lösung von Salicylaldehyd. Es wurden am 2. Dezember 1887 folgende Mischungen hergestellt:

A 95 Wasser + 5 gr Salicylaldehyd-Lösung = 0,05 pCt. Salicylaldehyd.
B Dieselbe Mischung, mit Natriumcarbonat-Lösung schwach alkalisirt.
C 97,5 Wasser + 2,5 gr Salicylaldehyd-Lösung = 0,25 pCt. Salicylaldehyd.
D 99 „ + 1 „ „ = 0,1 „ „
E 99,75 „ + 0,25 „ „ = 0,025 „ „

Die Mischungen befanden sich in ziemlich weithalsigen Kolben von etwa 300 cc Inhalt, welche ich für diesen Zweck den Erlenmeyer'schen Kolben vorziehe, da die beim Umschütteln, Umschwenken nach oben gelangenden Theile der Flüssigkeit leichter wieder abfliessen.

In jeden Kolben wurden 10 gr feingehacktes Fleisch gebracht, dieses durch Umschütteln gut vertheilt, die Kolben dann lose mit Watte verstopft, in den Brutschrank gesetzt. Die Veränderungen des Kolben-Inhaltes, sowie die Resultate der Abimpfung auf Nährgelatine sind aus folgender Tabelle ersichtlich.

[1]) Centralbl. f. d. med. W. 1887, No. 51.

Bezeichnung der Mischung Gehalt an Salicylaldehyd	Untersuchung am 4. December 1887		Untersuchung am 3. Februar 1888		Untersuchung am 28. Mai 1888	
	Geruch	Reaction	Geruch	Reaction	Geruch	Reaction
A 0,5 pCt.	-	Spur sauer	-	sauer	-	sauer
B 0,5 pCt.+ Natriumcarbonat	-	alkalisch	-	neutral	-	neutral
C 0,25 pCt.	-	Spur sauer	-	schwach sauer	-	neutral
D 0,1 pCt.	-	Spur sauer	-	schwach sauer	-	neutral
E 0,025 pCt.	schwach faulig	Spur sauer	faulig	alkalisch	stark faulig	stark alkalisch

Am 3. Februar 1888 wurden von sämmtlichen Mischungen je fünf Tropfen mit verflüssigter Nährgelatine im Röhrchen gemischt, diese dann schräg gelegt und bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Die Beobachtung ergab für die betreffenden Mischungen:

	A	B	C	D	E
7. Februar 1888	steril	steril	steril	steril	starke Entwickelung
12. Februar 1888	-	-	-	-	-
28. Mai 1888	-	-	-	vereinzelte Colonien	zerflossen

Da in den Mischungen von vornherein Fäulnissbakterien enthalten waren (vom Fleisch her), so ergiebt sich hieraus, dass der Salicylaldehyd bei einem Gehalt der Mischung von 0,5 pCt., 0,25 pCt. und 0,1 pCt. sicher entwickelungs-hemmend gewirkt hatte, sodass Fäulniss nicht stattgefunden hatte, bei einem Gehalt von 0,025 pCt. dagegen nicht; ferner, dass er bei einem Gehalt von 0,5 pCt. und 0,25 pCt. gleichzeitig mit Sicherheit desinficirend gewirkt hatte, bei 0,1 pCt. dagegen nicht mehr sicher, da bei der Uebertragung einiger Tropfen dieser Mischung auf Nährgelatine doch, wenn auch erst nach drei Wochen, Entwickelung einzelner Bakterien stattfand, welche der Wirkung des Salicylaldehyds entgangen waren.

Was den Eintritt der sauren Reaction in den Mischungen betrifft, so ist diese wohl auf die Oxydation des Salicylaldehyd zu Salicylsäure zu beziehen. So erklärt sich auch, dass die ursprünglich schwach alkalische Lösung B allmählig neutral wurde. Schwieriger ist zu erklären, warum die ursprünglich

schwach sauren Lösungen C und D allmählich wieder neutral wurden. Vermuthlich hängt die Erscheinung mit der fortschreitenden Auslaugung des Fleisches und Sättigung der Salicylsäure durch das Dikaliumphosphat des Fleisches zusammen.

Bemerkenswerth ist noch, dass alle Mischungen allmählich eine ziemlich intensiv gelbgrüne Färbung annahmen, mit Ausnahme der Mischung B, welche in Folge ihres Alkaligehaltes, und der Mischung E, welche in Folge des gebildeten Ammons bräunlich erschien. Die Grünfärbung hängt von der Einwirkung des Salicylaldehyds auf das Eiweiss ab. Man beobachtet sie ebenso an Blutserum, welches man durch Zusatz grösserer Quantitäten Salicylaldehyd conservirt, sie tritt auch bei der Benetzung der Haut mit Salicylaldehyd auf.

Die Grenze der antiseptischen Wirkung = 0,1 pCt. stimmt mit den Angaben von Bokorny überein, wenn man in Betracht zieht, dass Bokorry dieselbe lediglich danach beurtheilt hat, ob „stinkende Gährung" eintritt, und auch nur acht Tage hindurch beobachtet hat. Dass der Salicylaldehyd stärker antiseptisch wirkt, als die Salicylsäure, darin stimme ich Bokorny vollständig bei, habe ich doch schon vor langen Jahren[1]) beobachtet, dass gehacktes Fleisch mit gesättigter (0,4 pCtiger) Salicylsäure-Lösung allmählich in intensiv stinkende Fäulniss überging und reichlich Bakterien enthielt. Allerdings machte sich der erste Fäulnissgeruch erst nach 5½ Wochen bemerkbar, und weitere 19 Tage später war volle Fäulniss zu constatiren.

Wenn nun auch in Bezug auf den Salicylaldehyd annähernde Uebereinstimmung zwischen den Befunden von Bokonry und den meinigen besteht, so möchte ich doch vor einer Verallgemeinerung der an einer künstlichen Nährlösung bei kurzer Beobachtung erhaltenen Resultate warnen. Man ist nach solchen Versuchen nicht berechtigt, etwa zu sagen, „die conservirende Wirkung des Salicylaldehyds liegt zwischen 0,1 und 0,25 pCt." Dagegen habe ich mich schon einmal bei Gelegenheit von Versuchen über das Saccharin[2]) ausgesprochen. Es heisst daselbst l. c. S. 52: „Ebenso halte ich es für verfehlt, für die conservirende Wirkung einer Substanz einen bestimmten Index anzugeben, da dieser in höch-

[1]) Berl. klinische Wochenschrift 1875 Nr. 22.

[2]) Dieses Arch. Bd. 105 S. 46.

stem Maasse von der Beschaffenheit des der Prüfung zu Grunde gelegten Materials abhängt."

Eine Peptonlösung (oder richtiger Albumose-Lösung) ist ja, mit Nährsalzen versehen, im Allgemeinen eine für diese Beobachtungen geeignete Flüssigkeit; man würde sich aber sehr täuschen, wenn man annehmen wollte, dass man jede eiweisshaltige Flüssigkeit conserviren, d. h. vor der Ansiedelung von Fäulnissbakterien und deren zersetzender Wirkung schützen könnte, wenn man sie mit den von Bokorny untersuchten ätherischen Oelen oder nahestehenden organischen Substanzen in der von Bokorny angegebenen Concentration versetzt, natürlich Bedingungen vorausgesetzt, welche eine Verdunstung dieser Substanzen ausschliesst. Das ist keineswegs der Fall. Einen wie grossen Einfluss das gewählte Substrat und die Dauer der Beobachtung hat, das zeigen die grossen Differenzen in den Angaben über die Salicylsäure. Nach Bokorny's an Peptonlösungen gemachten Beobachtungen unterdrückt die Salicylsäure bei 0,1 pCt. noch die „Verpilzung,"[1]) während nach meinen Versuchen Fleisch in 0,4 pCt.-Lösung noch fault. Nach Bokorny lässt Salicylsäure bei 0,02 pCt. Schimmelpilz-Bildung „noch aufkommen," unterunterdrückt sie also jedenfalls bei etwas höheren Concentrationen; ich habe solche bei Versuchen mit Fleisch gleichfalls bei 0,4 pCt. auftreten sehen, und zwar vor Eintritt von Fäulniss, welche vermuthlich durch das bei der Schimmelpilz-Entwickelung entwickelte Ammoniak vermittelt wurde, insofern dasselbe die Salicylsäure neutralisirte, also die „Säurewirkung" aufhob. Nun könnte gegen die Beweiskraft von mit gehacktem Fleisch angestellten Versuchen vielleicht der Einwand erhoben werden, dass auf eine Durchdringung aller einzelnen Fleischpartikelchen mit dem antiseptischen Mittel nicht gerechnet werden kann; zufällig stehen mir aber auch an Blut gemachte Beobachtungen gerade betreffs einiger der von Bokorny untersuchten Substanzen zur Verfügung, welche zeigen, dass jede solche Verallgemeinerung unzulässig ist. Ich will übrigens nicht versäumen, ausdrücklich zu bemerken, dass Bokorny diesen verallgemeinernden Schluss aus seinen Beobachtungen nicht gezogen. Ihn interessirten die ätherischen Oele einerseits vom

[1]) Gemeint ist „Bakterien-Entwickelung".

botanischen Standpunkt aus, andererseits handelte es sich bei ihm um eine nähere Prüfung der bekannten conservirenden Wirkung von Gewürzen, welche reich sind an ätherischen Oelen.

Vom Zimmtaldehyd, dem Hauptbestandtheil des Zimmtöls, sagt Bokorny, dass das in der wässrigen Lösung des Zimmtaldehyds (0,01 pCt.) aufgelöste Pepton, mit den nöthigen Nährsalzen versehen, nicht in Fäulniss übergeht, auch wenn die Lösung neutral gehalten wird.

Mir lag daran, Blut für längere Zeit zu conserviren. Um ein Verfahren für diesen Zweck ausfindig zu machen, wurde am 25. Juni 1896 eine Anzahl neuer, vorher durch Erhitzen sterilisirter, mit neuen Korken versehener Medicinflaschen von 200 ccm Inhalt mit Blut fast gefüllt, welches beim Schlachten in einem grossen sterilisirten Glasstöpselglas aufgefangen und dann sofort in das Laboratorium gebracht worden war.

Zu diesen Blutproben wurden folgende Zusätze gemacht:

No.	1	0,5	cc	Pfeffermünzöl	
-	2	0,5	-	-	und 100 g Rohrzucker
-	3	0,25	-	-	
-	4	0,25	-	-	und 100 g Rohrzucker
-	5	0,1	-	-	
-	6	0,5	-	Zimmtöl	
-	7	0,5	-	-	uud 100 g Rohrzucker
-	8	0,25	-	-	
-	9	0,25	-	-	und 100 g Rohrzucker
-	10	0,4	-	Salicylaldehyd	
-	11	0,5	-	-	und 100 g Rohrzucker
-	12	0,2	-	-	
-	13	0,2	-	-	und 100 g Rohrzucker
-	14	0,1	-	-	

Die Flaschen wurden nach dem Ansetzen der Mischungen, bezw. allmählichen Einschütten des Zuckers verkorkt, wiederholt, auch an den nächsten Tagen, durchgeschüttelt, bei Zimmer-Temperatur aufbewahrt, und von Zeit zu Zeit untersucht.

Die Zusätze schoben den Eintritt der Fäulniss sämmtlich erheblich hinaus — ich übergehe die Einzelheiten —, schliesslich erwiesen sich aber sämmtliche Blutproben bei einer Untersuchung am 1. October 1897, also nach etwa $^5/_4$ Jahr, ohne Ausnahme als intensiv faulig.

Beim Zimmtöl und Salicylaldebyd könnte man diesen Befund vielleicht durch die Annahme erklären, dass sie sich zu

Zimmtsäure, bezw. Salicylsäure oxydirt haben. Vom Zimmtaldehyd (bezw. Zimmtöl) ist es bekannt, dass es schon beim Aufbewahren durch den Sauerstoff der Luft theilweise zu Zimmtsäure oxydirt wird, beim Salicylaldehyd könnte das oxydirende Ferment des Blutes nach dieser Richtung gewirkt haben, immerhin waren beide Substanzen zu dem angegebenen Zeitpunkt noch reichlich im gefaulten Blut vorhanden. Für das Pfeffermünzöl ist jede derartige Erklärung unzulässig, da es der Hauptsache nach aus Menthol besteht, von dem Menthol, einem secundären gesättigten Alkohol, aber eine Oxydation äusserst unwahrscheinlich ist. Ausserdem war thatsächlich noch reichlich Pfeffermünzöl vorhanden. Da das Pfeffermünzöl und die genannten Aldehyde zu den stärksten organischen Antisepticis gehören, so kann man sagen, dass die Conservirung von Blut durch derartige antiseptische Mittel nicht möglich ist. Es käme höchstens noch das gewöhnliche Senföl (Allyl-Senföl) in Betracht, an welches ich bei Anstellung der Versuche nicht gedacht habe[1]).

Ich schliesse hieran noch das Resultat eines Versuches mit Benzoësäure-Anhydrid, auf dessen antiseptische Wirkung ich gleichfalls schon aufmerksam gemacht habe. Der Versuch wurde gleichzeitig mit dem Salicylaldehyd-Versuch angestellt; auch hier bildete das Ausgangs-Material eine 10 procentige alkoholische Lösung, die Versuchs-Anordnung ist ganz dieselbe, nur wurde noch ein Controlversuch angestellt, der natürlich für beide Reihen gilt. Das Benzoësäure-Anhydrid war vollkommen rein, d. h. von der dem käuflichen Präparat stets anhaftenden Benzoësäure befreit. Das geschieht sehr leicht dadurch, dass man das Präparat in reinem Aether löst, die ätherische Lösung wiederholt mit schwacher Natriumcarbonat-Lösung, dann mit Wasser schüttelt, die ätherische Lösung durch ein trockenes Filter filtrirt, dann destillirt, bezw. verdunstet; die Reste von Aether müssen durch längeres Erwärmen verjagt werden.

[1]) Ich sehe hier davon ab, dass sich Mischungen von Glycerin und Blut bekanntlich, wenigstens lange Zeit, ohne Fäulniss halten, ebenso Blut mit Fluornatrium, das Hämoglobin bleibt dabei aber nicht ganz unverändert.

Bezeichnung der Mischung u. Gehalt an Benzoësäure-Anhydrid	Untersuchung am 4. Dec. 1887		Untersuchung am 3. Febr. 1888		Untersuchung am 28. Mai 1888	
	Geruch	Reaction	Geruch	Reaction	Geruch	Reaction
A. 0,5 pCt.	etwas ranzig	stark sauer	etwas ranzig	sauer	etwas ranzig	sauer
B. 0,5 pCt. + etwas Natriumcarbonat	nicht ranzig	sauer	-	sauer	-	sauer
C. 0,25 pCt.	etwas ranzig	stark sauer	-	sauer	-	sauer
D. 0,1 pCt.	-	sauer	käseartig	schwach sauer	käseartig	schwach sauer
E. 0,025 pCt.	faulig	sauer	faulig	neutral	faulig	schwach alkalisch
Controlle	stark faulig	sauer	faulig	stark alkalisch	faulig	ziemlich stark alkalisch

Die saure Reaction rührt von dem allmählichen Uebergang in Benzoësäure her.

Am 3. Februar 1888 wurden von allen Mischungen fünf Tropfen auf Nährgelatine gebracht, ebenso wie bei dem Salicylaldehyd-Versuch.

Der Befund war folgender:

Am 7. December 1887: A., B., C., D. steril, in E. und Controlle viele Colonien.

- 12. - - do.

- 28. Mai 1888: A., B., C. steril, D. vereinzelte Colonien, E. und Controlle zerflossen.

Das Ergebniss ist also ganz dasselbe, wie beim Salicylaldehyd.

Sowohl dieser Versuch, als auch der mit Salicylaldehyd wurde seiner Zeit im Interesse der Frage nach der Möglichkeit der Darmdesinfection angestellt, welche, wie ich kurz bemerken will, durch diese Mittel nicht erreicht werden konnte.