Zur Wirkung einiger Phenole auf Würmer.

Von **Werner Schulemann** in Elberfeld.

In der Therapie der Wurmkrankheiten finden einige Phenole — besonders das Thymol — praktische Verwendung, sodaß der Gedanke nahelag, auch andere Vertreter dieser leicht zugänglichen Gruppe auf ihre antihelminthische Wirkung zu untersuchen.

Solchen Untersuchungen stellen sich aber namentlich zur Jetztzeit sofort die Schwierigkeiten entgegen, daß parasitische Würmer bei dem Mangel an Schlachttieren kaum zu erhalten sind, daß auch mit Tänien behaftete Laboratoriumsversuchstiere fast völlig fehlen.

Als Objekte zur pharmakologischen Untersuchung kommen nur die auch jetzt leicht zu erhaltenden Regenwürmer und Strudelwürmer in Betracht. Aber auch bei diesen ist eine sehr vorsichtige Bewertung der Versuchsergebnisse notwendig. Namentlich gilt dies für den Regenwurm, obwohl er durch die Arbeiten von Straub und Trendelenburg geradezu ein klassisches Versuchsobjekt geworden ist, das namentlich von amerikanischen Autoren neuerdings viel verwendet wird.

Die Größe der Tiere, Zeitdauer ihrer Gefangenschaft, das umgebende Medium (Wasser, Salzlösung), Temperatur, Spannung des verwendeten Präparates und vieles andere mehr bedingen oft große Unterschiede im Ausfall der einzelnen Versuche. Dazu kommt, daß es oft recht schwer ist festzustellen, wann ein Regenwurm tot ist.

Zunächst hören die koordinierten Ringelbewegungen auf — wohl wenn die Nervenleitung versagt —, um leichtem Pendeln der Enden Platz zu machen. Erlischt auch dieses, so besteht meist noch mechanische oder faradische Erregbarkeit. Dabei verhalten sich die einzelnen Wurmteile auch noch verschieden. Die Mittelsegmente scheinen meist schneller als die Wurmenden ihre Funktion einzustellen.

Zur Feststellung der Abtötungszeit scheint also der Regenwurm recht ungeeignet. Mit Vorteil wurden hierfür die Strudelwürmer, die man in jeder Aquarienhaltung kaufen kann, verwendet. Ihre Kleinheit und Gleichmäßigkeit gestattet, eine größere Zahl zu einem Versuche zu benützen, ihre Durchsichtigkeit läßt auch mikroskopische Beobachtung des Wurminhaltes zu.

Zur Untersuchung von Reiz- und Lähmungswirkung von Substanzen wurden hingegen ganglienhaltige und ganglienfreie Regenwurmstücke verwendet. Am geeignetsten war es in beiden Fällen, ein 3 cm langes Längsstück (Messung in kontrahiertem Zustand) direkt hinter dem Klitellum einem möglichst frisch gefangenen Wurm zu entnehmen. Nervenhaltige Stücke werden am besten von Würmern von 2,5–3,0 g Gewicht, solche, aus denen die Nerven entfernt werden sollen, von großen Würmern von 3,5–4,5 g Gewicht genommen. Zur Entfernung der Ganglienkette wurde das Wurmstück längs einer zentralen Borstenreihe mit einer feinen Schere, ohne den Darm zu verletzen, aufgeschnitten und mit Pinzette und Nadel die Bauchganglienkette als Ganzes entfernt. Der Darm wurde nicht entfernt. Die Befestigung der Wurmstücke zur Registrierung der Bewegung ist aus der beigegebenen Figur ersichtlich. Die Aufhängung zwischen feinen Metalldrähten erlaubt faradische Reizung, ohne den Wurm zu berühren. Als spannendes Gewicht wurden bei den nervenhaltigen Präparaten 2 g, bei den ganglienfreien 3–4 g verwendet. Zu schwere Gewichte vermag ein Wurmstück nicht zu heben, zu leichte erlauben, namentlich den ganglienlosen Präparaten, in einen gewissen Dauerkontraktionszustand überzugehen. Endlich erwies es sich als zweckmäßig, die Wurmpräparate in einem Gefäß aufzuhängen, wie es die Figur zeigt, welches den Wechsel der

umgebenden Flüssigkeit gestattet, ohne das Wurmstück mechanisch zu sehr zu irritieren, was namentlich bei den nervenhaltigen Stücken sehr störend sein kann. Bei diesen leicht erregbaren Präparaten ist es ganz besonders nötig, vor Zugabe der zu untersuchenden Substanz ein längeres Stück „Normalkurve“ aufzunehmen. Als Aufhängeflüssigkeit diente nach Straub-Trendelenburg eine Lösung von

6,0 NaCl
0,1 KCl
0,2 CaCl₂
0,1 NaHCO₃
zu 100,0 H₂O

von der je 10 cm kurz vor dem Versuch zu 90 cm Wasser oder wäßriger Substanzlösung gesetzt wurden. Die Temperatur betrug stets +15° bis +18° C.

Alle diese Versuche können aber immer nur gewisse Anhaltspunkte dafür geben, ob von einer Substanz antihelminthische Wirkung überhaupt zu erwarten ist. Ein bindender Schluß läßt sich nicht aus ihnen ziehen, ganz besonders vermögen sie nicht einmal Andeutungen darauf zu geben, ob die Verbindung auf Tánien, Askariden oder Oxyuren wirken wird. All das zu entscheiden, muß vollständige der klinischen Prüfung überlassen bleiben.

Durch Anwendung dieser Untersuchungsmethodik ließ sich aus der großen Reihe geprüfter Verbindungen als wirksamste das Benzylphenol und Benzyl-o-kresol herausheben, auf deren Eigenschaften hier näher eingegangen werden soll.

Das Benzylphenol existiert in zwei isomeren Formen

¹⁾ F. P. 144–145° Karbaminsäureester (Urethan) (– „Butolan“) – ²⁾ F. P. 110–111° Karbaminsäureester (Urethan).

Die p-Verbindung kristallisiert in langen, festen, weißen Nadeln F.P. +84°, die o-Verbindung in derben Prismen F.P. +53–54°. Beide Verbindungen schmecken scharf pfefferartig und sind in Wasser schwer löslich (etwa 1:4000–6000).

Ihre Giftwirkung wurde zunächst an Strudelwürmern geprüft.

p-Benzylphenol			o-Benzylphenol		
1: 4000	nach 5 Minuten	alle tot	nach 5 Minuten	alle tot	
1: 6000	" 10 "	fast alle tot	" 10 "	fast alle tot	
" 23 "	alle tot	" 23 "	alle tot		
1: 8000	" 8 "	die meisten tot	" 8 "	die meisten tot	
" 33 "	alle tot	" 33 "	alle tot		
1: 16000	" 3 1/4 Std.	die meisten tot	" 3 1/4 Stunden	die meisten tot	
" 6 "	fast alle tot	" 4 "	40 Minuten	alle tot	
" 1 Tage	alle tot	" 1 Tage	alle tot		
1: 32000	" 7 Stunden	nur wenige tot	" 7 "	nur wenige tot	
" 1 Tage	alle tot	" 1 Tage	alle tot		

Setzt man der Phenollösung die dem Phenol äquivalente Menge NaOH zu, so wird die Wirkung auf Strudelwürmer bei beiden Verbindungen etwas intensiver und verschiebt sich ein wenig zugunsten des o-Benzylphenols.

Die Kutikula der Strudelwürmer trübt sich zunächst (beim Regenwurm tritt starke Schleimsekretion ein). Im Innern zeigen sich parenchymatöse Blutungen, dann treten in einigen Intersegmentalräumen Darmschlingen und Hauptblutgefäße aus, die beide bald platzen und ihren Inhalt nach außen entleeren. Die anfänglich lebhaften Bewegungen der Würmer erlahmen sehr rasch und machen einem leichten Pendeln der Enden Platz, bis endlich auch dieses aufhört.

Am ganglienhaltigen Regenwurmpräparat rufen noch Lösungen 1:20000 deutliche Erregung der Bewegungen hervor, bei Lösungen von 1:8000 antwortet das Präparat sofort mit einer maximalen Kontraktion; hierauf finden Pendelbewegungen statt, die sich nach und nach unter Zunehmen der Dehnung des Wurmes ausgiebiger gestalten. Nach 2–3 Minuten werden nun am maximalgedehnten Wurmstück die Pendelbewegungen immer weniger ausgiebig und immer seltener. Nach 6–7 Minuten sind sie meist völlig erloschen, nur bei wenigen Wurmstücken war nach dieser Zeit noch eine wenig ausgiebige Kontraktion festzustellen. Das Wurmstück hängt nun ruhig in maximaler Dehnung. Weder mechanische Reize (Reiben, Dehnen), noch Santonin vermochten es mehr zu erregen. Faradische Reizung hingegen ruft noch längere Zeit geringe Reaktion hervor, doch ist diese selbst bei langer Reizung mit starken Strömen viel schwächer als der Reizerfolg am unbehandelten Präparat mit ganz schwachen Strömen.

Am ganglienfreien Präparat rufen Lösungen 1:6000–8000 meist sofortige Erregung hervor, wobei das Wurmstück mehr und mehr in Kontraktionszustand kommt, der maximal nach etwa 5 Minuten erreicht ist. Die Pendelbewegungen werden nun nach und nach weniger ausgiebig und seltener, wobei das Muskelpräparat ganz langsam dem Dehnungszustand wieder zustrebt. Nach ca. 20 Minuten hören die Pendelbewegungen völlig auf, während bis zur Erreichung maximaler Dehnung noch längere Zeit vergeht. Gegen Reizungen — insbesondere Santonin — waren die Präparate unempfindlich geworden. Auswaschen gab keine oder nur ganz unvollständige Regeneration.

Zwischen o- und p-Benzylphenol sowie p-Benzyl-o-Kresol ergab sich kein Wirkungsunterschied.

Die Wirkung des Benzylphenols erinnert an die des Kumarins, das nach Trendelenburgs Versuchen auch zunächst erregend, dann aber lähmend wirkte; sie unterscheidet sich darin vom Santonin, das in Lösungen 1:5000–10000 reversible Dauererregung gibt, wie auch eigene Vergleichsversuche bestätigen.

Es sei in diesem Zusammenhang darauf hingewiesen, daß das klinisch so wirksame Santonin die Würmer nicht tötet, sondern eine Dauererregung der Wurmmuskulatur hervorruft und auf diese Weise den Parasiten vertreibt.

Dies ist auch bei der pharmakologischen Bewertung von Wurmmitteln wohl zu berücksichtigen. Eine Substanz kann sehr wohl antihelminthisch wirksam sein, ohne den Parasiten zu töten.

Während nun Kumarin infolge seiner sonstigen pharmakologischen Eigenschaften als Antihelminthikum nicht in Frage kommt, ließ die weitere Untersuchung der Benzylphenole dies möglich erscheinen.

Für den Frosch (in den Lymphsack injiziert) betrug die tödliche Dosis

p-Benzylphenol	0,0025 g pro 14 g Frosch, tot nach 1 1/2 Stunden
	0,00175 g " 14 g " erholt.
o-Benzylphenol	0,00175 g " 13,5 g " tot nach 1 3/4 "
	0,0015 g " 15 g " nach vorübergehend leichter Parese erholt.

Für die Maus (subkutan)

p-Benzylphenol	0,007 g pro 14 g Maus, tot nach 18 Stunden
	0,005 g " 17,5 g " am folgenden Tage erholt.
o-Benzylphenol	0,005 g " 14 g " tot nach 3 Tagen
	0,004 g " 16 g " tot am folgenden Tage
	0,004 g " 14 g " wird vertragen.

Die Vergiftungssymptome bestehen in einer fortschreitenden Lähmung des Zentralnervensystems.

Beim Kaninchen gaben 0,01 g pro 1 kg intravenös injiziert rasch vorübergehende, mäßige Blutdrucksenkung; 0,02 g o-Benzylphenol pro

1 kg Kaninchen intravenös wirkte innerhalb 1 Minute unter rascher Blutdrucksenkung tödlich. Die Sekretion zeigte diastolischen Herzstillstand und ausgedehnte Blutungen in das Lungenparenchym.

Weit ungiftiger aber erwies sich die Verbindung bei Fütterungsversuchen. Hierzu wurden von vornherein Substitutionsprodukte verwendet, welche nicht mehr den scharfen Pfeffergeschmack der freien Phenole zeigten, aber unter der Wirkung des Darmalkalis weitgehend in die freien Phenole zerfielen.

Geschmacklos waren die Urethane

und Karbonate

Um einen Anhaltspunkt für Geschwindigkeit und Grad des Zerfalls in die freien Phenole zu erhalten, wurden die einzelnen Verbindungen bei $+37^\circ$ mit 1%iger Kristallsodalösung verrührt unter ständiger Messung der Leitfähigkeitsänderung der Lösungen. Hier stieg für das p-Benzylphenolurethan die „Zersetzungskurve“ am schnellsten an, während die Karbonate am beständigen waren. Diese Kurven erschienen aber nur verwertbar für die Geschwindigkeit des Zerfalls, nicht aber für den Grad desselben, da die entstehenden Zersetzungsprodukte untereinander bei allen 4 Verbindungen verschiedene Zusammensetzung haben. Da der Einfluß auf die Leitfähigkeit für die einzelnen Komponenten nicht bekannt ist, können die absoluten Zahlen nicht zu Vergleichen verwendet werden. Hierzu aber läßt sich besser eine andere Eigenschaft der Phenole einerseits, der Urethane und Karbonate andererseits verwerten.

Die freien Phenole kuppeln in alkalischer Lösung mit Disazokörpern, Urethane und Karbonate aber kuppeln nicht.

Mit Disazosulfanilsäure entsteht aus p-Benzylphenol der Farbstoff

Entsprechend war in einer Lösung von Urethanen und Karbonaten mit Disazosulfanilsäure keine Farbstoffbildung wahrzunehmen. Sie trat aber bei längerem Stehen der Verbindungen mit Sodalösung — ganz besonders aber nach Erwärmen ein. Bei den Urethanen wurde die Farbstoffbildung weit intensiver als bei den Karbonaten. Kolorimetrische Bestimmung ergab beispielsweise beim o-Benzylphenolurethan, daß bei einstündigem Rühren bei $+37^\circ$ in 1%iger Sodalösung freies Phenol zu 96% aus der Verbindung abgespalten war.

Dieser Zerfall findet ebenso im Darm des lebenden Tieres statt, das nach Fütterung mit Benzylphenolurethan starke Disazoreaktion im Harn zeigt, ein Beweis, daß das Urethan zerfallen und das freie Phenol teilweise resorbiert worden ist.

p-Benzylphenolurethan zu 1,5 g pro 1 kg Kaninchen verfüttert, rief keinerlei Krankheitserscheinungen hervor; o-Benzylphenolurethan in gleicher Dosis gegeben, rief nach 2 Tagen Eiweißausscheidung hervor, nach 8 Tagen starben die Tiere. Die Sektion zeigte Reizungen von Magen- und Darmschleimhaut sowie Nephritis. 1,0 g o-Benzylphenolurethan wurde hingegen symptomlos vertragen.

Beim Menschen wird 3mal 0,5 g pro Tag per os, während 7 Tagen und länger gegeben, gleichfalls völlig symptomlos ertragen.

Auf den isolierten Meerschweinchenuterus war p-Benzylphenol 1:5000 wirkungslos, die o-Verbindung gab 1:5000 eine ganz geringe Kontraktion.

Die Entscheidung, ob diese Verbindungen praktisch als Antihelminthika verwertbar sein werden, muß aus den eingangs angeführten Gesichtspunkten vollständig der klinischen Prüfung überlassen bleiben.

Jedenfalls sind diese Verbindungen pharmakologisch weit wirksamer als Benzylalkohol und seine Ester, die neuerdings von Sollmann (Journal of Pharmac. and exp. Ther. 14 S. 319) untersucht wurden, aber in Konzentrationen von 1:1000 unter Verwendung der hier gebrauchten Untersuchungsmethodik kaum noch irgendwelche Wirkung erkennen ließen.

Ueber die klinische Verwertbarkeit der untersuchten Verbindungen liegen bisher zwei Publikationen von Koslowsky¹⁾ und Schickhardt²⁾ vor. Beide Autoren halten den Karbaminsäureester des p-Oxydiphenylmethans (p-Benzylphenolurethan), das von den Farbenfabriken vorm. Friedr. Bayer und Co., Leverkusen, unter dem Namen „Butolan“ in den Handel gebracht wird, bei der Oxyurenkrankung des Menschen für wirksam und geben Vorschriften für seine therapeutische Anwendung.

¹⁾ D. m. W. 1920 Nr. 14/15. — ²⁾ M. m. W. 1920 Nr. 25.