

Über die Herkunft der schwefelhaltigen Stoffwechselprodukte im tierischen Organismus.¹⁾

(II. Mitteilung.)

Von

J. Wohlgemuth.

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

(Der Redaktion zugegangen am 23. Dezember 1904.)

Die folgenden Untersuchungen erstrecken sich im wesentlichen auf die Ermittlung der Herkunft der bereits bekannten gasförmigen schwefelhaltigen Stoffwechselprodukte, des Schwefelwasserstoffs (H_2S), des Methylmerkaptans ($\text{CH}_3 \cdot \text{SH}$) und des Äthylsulfids ($(\text{C}_2\text{H}_5)_2 \cdot \text{S}$). Über das Vorkommen der beiden erstgenannten Verbindungen im tierischen Organismus und über die Bedingungen, unter denen sie auch sonst extra corpus entstehen können, existieren bereits zahlreiche Untersuchungen. Vom Schwefelwasserstoff weiß man, daß er ein konstanter Bestandteil der Darmgase ist, und das Methylmerkaptan fanden Nencki und Sieber,²⁾ nachdem zuerst E. und H. Salkowski³⁾ auf das Vorkommen einer flüchtigen organischen Schwefelverbindung bei der Eiweißfäulnis hingewiesen hatten, bei der Fäulnis, später auch im Darminhalt. Die eingehendsten Ermittlungen über die Entstehung dieses Körpers verdanken wir indessen Rubner und seinen Schülern. Rubner⁴⁾ konnte nachweisen, daß nach dem Genuß von Spargel, Rotkohl und Blumenkohl Methylmerkaptan im Harn

¹⁾ Vorgetragen auf der 75. Versammlung Deutscher Naturforscher und Ärzte zu Cassel am 22. Sept. 1903. Vergl. Verhandlungen, S. 422.

²⁾ Nencki u. Sieber, Monatshefte f. Chemie, Bd. X, S. 526, 1889; X, 862, 1889.

³⁾ E. u. H. Salkowski, Ber. der deutschen chem. Gesellschaft, Bd. XII, S. 651, und diese Zeitschrift, Bd. VIII, S. 424, 1884.

⁴⁾ Rubner, Archiv f. Hygiene, Bd. XIX, S. 136, 1893.

auftritt; sodann, daß Merkaptan entstehen kann aus allen möglichen organischen Substanzen wie tierischen und pflanzlichen Nahrungsmitteln, wenn man sie mit Alkali zersetzt, und endlich bei den verschiedensten biologischen Prozessen. — Weit weniger unterrichtet ist man über die Entstehung von Äthylsulfid. Man weiß nur aus den Untersuchungen von Abel,¹⁾ daß diese flüchtige, stark nach Knoblauch riechende Verbindung aus dem Hundeharn beim Erhitzen mit Kalkmilch oder Ätzkali sich entwickelt. — Eine andere flüchtige, dem Äthylsulfid sehr ähnlich riechende Substanz fand Drechsel²⁾ bei der Zersetzung der Eiweißkörper mit Salzsäure.

Über die Muttersubstanz der genannten Körper ist so gut wie nichts bekannt: oder vielmehr, wie aus den obigen Darlegungen hervorgeht, nur so viel, daß sie im tierischen Organismus — falls sie nicht in der Nahrung bereits präformiert sind — vorwiegend bei der Darmfäulnis aus Eiweiß sich entwickeln. Aus welchem Atomkomplex des Eiweißmoleküls sie aber herkommen, darüber existieren bisher noch keine Untersuchungen.

Nachdem nun frühere Versuche³⁾ gezeigt haben, daß das Cystin im wesentlichen als die Quelle der Sulfate, des nicht oxydierten Schwefels und der unterschwefligsauren Salze im Harn, besonders aber als die Quelle des Taurins in der Galle⁴⁾ anzusehen ist, schien es von Wichtigkeit, um in die noch dunkle Frage von der Herkunft der gasförmigen schwefelhaltigen Stoffwechselprodukte etwas Licht zu bringen, Fäulnisversuche mit Cystin anzustellen, und da dieselben in vivo nicht vorgenommen werden konnten, mußte man sich begnügen, sie in vitro nachzuahmen.

Das für diese Versuche notwendige Cystin war wie das zur Fütterung der Kaninchen verwandte aus Menschenhaaren nach Mörners⁵⁾ Methode durch Hydrolyse mit HCl gewonnen.

¹⁾ Abel, Diese Zeitschrift, Bd. XX, S. 253, 1895.

²⁾ Drechsel, Zentralbl. f. Physiol., Bd. X, S. 529, 1897.

³⁾ J. Wohlgemuth, Verhandlungen d. Gesellsch. Deutscher Naturf. u. Ärzte 1903, S. 423 und diese Zeitschrift, Bd. XL, S. 81, 1903.

⁴⁾ Ich benutze die Gelegenheit, um einen Druckfehler in der I. Mitteilung (l. c.) zu berichtigen: statt ‰ ist überall ‰‰ zu lesen.

⁵⁾ K. A. Mörner, Diese Zeitschrift, Bd. XXVIII, S. 595, 1899.

Um Wiederholungen zu vermeiden, soll zunächst ganz allgemein die Versuchsanordnung beschrieben werden:

250 g Schabefleisch wurden in einem Kolben mit einer abgewogenen Menge Cystin und 500 ccm Wasser versetzt und so lange durcheinander gerührt, bis sich ein homogener Brei gebildet hatte. In einen andern Kolben wurden zur Kontrolle 250 g Schabefleisch + 500 ccm Wasser ohne Cystin gebracht. Um die Fäulnis zu beschleunigen, wurden beide Portionen in gleicher Weise mit einer Fäulnislösung geimpft und längere Zeit im Brutschrank unter häufigem Schütteln stehen gelassen. Zum Auffangen der schwefelhaltigen Gase stand der Kolben, der die Fäulnislösung enthielt, in Verbindung mit einer Flasche, die mit 30 ccm einer 3%igen Quecksilbercyanidlösung gefüllt war, und von dieser Flasche führte eine Verbindungsröhre zu einer zweiten Flasche, in der sich 30 ccm einer Quecksilberchloridlösung befanden. Um ein Zurücksteigen der Flüssigkeiten zu vermeiden, waren sowohl der Kolben wie die zweite Flasche in bekannter Weise mit Sicherheitsröhren versehen.

Im einzelnen gestalteten sich die Versuche folgendermaßen:

Versuch I.

500 g Schabefleisch wurden in zwei gleiche Portionen, A und B, geteilt;

A wurde mit 10 g Rohcystin + 500 ccm Wasser + 25 ccm einer konzentrierten Na_2CO_3 -Lösung, entsprechend der Vorschrift von E. Salkowski,¹⁾ + 5 ccm einer Fäulnislösung versetzt;

B als Kontrollversuch in der gleichen Weise vorbereitet, aber ohne Cystin.

Bereits nach Verlauf von 24 Stunden trat in Portion A deutliche Gasentwicklung auf und nach 48 Stunden trübte sich die Quecksilbercyanidlösung merklich. Diese Trübung verstärkte sich zusehends, sodaß schon am 4. Tage ein kristallinischer Niederschlag zu konstatieren war, der von Tag zu Tag voluminöser wurde und eine teils schwarze, teils gelblich grüne Farbe zeigte. Inzwischen war auch — etwa vom 3. Tage ab — in

¹⁾ E. Salkowski, Praktikum, 1900, S. 78.

der zweiten mit Sublimat gefüllten Flasche eine Trübung aufgetreten, die aber nur ganz allmählich stärker wurde und sich schließlich zu einem weißen feinflockigen Niederschlag verdichtete. — In der Kontrollprobe B hatte sich zwar ebenfalls bald Gasentwicklung eingestellt, aber die Quecksilberlösungen in den Absorptionsflaschen blieben die ersten 3 Tage fast vollkommen klar, und erst von da ab trat eine leichte Trübung auf, die jedoch wenig Fortschritte machte. Nach 14tägigem Stehen im Brutschrank hatte sich nur ein ganz minimaler Niederschlag abgesetzt, während in der gleichen Zeit die Cystinportion ganz beträchtliche Niederschläge in beide Quecksilberlösungen geliefert hatte. Nun wurde der Versuch unterbrochen, die in den Fäulnisgemischen noch befindlichen Gase durch mäßiges Erwärmen auf dem Wasserbad unter gleichzeitiger Durchleitung von Luft ausgetrieben und die Fäulnislösung der Cystinportion zur Untersuchung auf etwa in Lösung gegangene schwefelhaltige Produkte durch Filtrieren von ihrem Rückstand befreit. Dieser enthielt noch unverändertes Cystin, das durch Extraktion mit Ammoniak aus ihm isoliert und durch die Kristallform sowie die Schwefelbleireaktion als solches charakterisiert werden konnte. — Das Filtrat zeigte beim Kochen mit Salzsäure, im Gegensatz zu dem der Kontrollprobe ein ähnliches Verhalten wie der Kaninchenharn nach Cystinfütterung: es trat zunächst eine geringe, dann immer stärker werdende Trübung auf, bis sich dichte weiße Flocken im Reagensglas absetzten. Zur weiteren Untersuchung wurden dieselben abfiltriert, in Chloroform gelöst und durch langsames Verdunsten an der freien Luft aus Chloroform in Gestalt von kleinen weißen Nadelchen wiedergewonnen. Dieselben verbrannten mit blauer Flamme unter Entwicklung eines stechenden Geruchs und sublimierten. Es war demnach in der Lösung unterschweflige Säure und zwar — da Na_2CO_3 derselben zugesetzt war — als Natriumsalz enthalten. Da nun, wie bereits betont, in der Kontrollprobe keine Spur von unterschwefligsaurem Natron zu konstatieren war, so ist hierdurch aufs neue der Beweis erbracht, daß das Cystin als die Quelle der unterschwefligen Säure anzusehen ist.

Die Quecksilberniederschläge aus dem Cystinversuch wurden von ihrer Lösung abfiltriert, sorgfältig mit destilliertem Wasser gewaschen und für die spätere Verarbeitung aufbewahrt. — Die Niederschläge aus dem Kontrollversuch waren dagegen so gering, daß an eine genaue Untersuchung derselben nicht zu denken war. Eine solche ist auch als ganz überflüssig anzusehen, da die Bildung geringer Mengen H_2S und $CH_3 \cdot (SH)$ bei der Fleischfäulnis bereits mehrfach nachgewiesen sind.

Versuch II.

A. 250 g Schabefleisch + 5 g Cystin + 500 ccm Wasser + 10 ccm Fäulnislösung ohne Zusatz von Na_2CO_3 .

B. (Kontrollprobe.) 250 g Schabefleisch + 500 ccm Wasser + 10 ccm Fäulnislösung.

Hier setzte die Fäulnis — wahrscheinlich infolge der Abwesenheit von Soda — nicht so schnell ein, aber man konnte doch schon nach wenigen Tagen in dem Verhalten der Quecksilberlösungen einen deutlichen Unterschied zwischen dem Cystinversuch und der Kontrollprobe konstatieren. Wegen der langsameren Zersetzung wurde dieser Versuch 6 Wochen lang ausgedehnt. In dieser Zeit hatten sich in den Quecksilberlösungen von A beträchtliche Niederschläge abgesetzt, während B auch dieses Mal nur Spuren von schwefelhaltigen Gasen geliefert hatte. — Vor der Unterbrechung des Versuchs wurden, wie im Versuch I, zur völligen Austreibung der Gase die Kolben mit den Fäulnislösungen auf dem Wasserbad erhitzt unter Durchleitung eines Luftstromes, dann die Quecksilberniederschläge abfiltriert und für die spätere gemeinschaftliche Verarbeitung aufbewahrt. — Aus dem Fäulnismisch A gelang wiederum die Darstellung noch unzersetzten Cystins und ebenso konnten größere Mengen unterschwefliger Säure in ihr nachgewiesen werden, während die Kontrollprobe auch dieses Mal keine Spuren von ihr enthielt.

Versuch III.

A. 250 g Schabefleisch + 7,5 g Cystin + 500 ccm Wasser + 10 ccm Fäulnislösung + 25 ccm gesättigte Sodalösung.

B. 250 g Schabefleisch + 500 ccm Wasser + 25 ccm gesättigte Sodalösung + 10 ccm Fäulnislösung.

Dieser Versuch wurde nach 4 Wochen unterbrochen und lieferte in bezug auf die Quecksilberniederschläge und den Gehalt an unterschwefligsäurem Natron dieselben Resultate wie die beiden vorangegangenen.

Nachdem auf diese Weise genügend Material zur genauen Bestimmung der gasförmigen Schwefelprodukte gesammelt war, konnte die Verarbeitung der gesamten Quecksilberverbindungen in Angriff genommen werden. Sie setzten sich zusammen vorwiegend aus einer schwarzen Verbindung, dem Quecksilbersulfid, herrührend von der H_2S -Entwicklung, dann aus einer gelblich grünen und zum geringeren Teil aus einer weißgrauen Substanz. Der gelblich grüne Anteil entsprach, wie die unten angeführten Analysen zeigen, dem Methylmerkaptan, der weißgraue dem Äthylsulfid. Die Trennung dieser beiden gelang bequem auf folgendem, bereits bei Anstellung der Fäulnisversuche eingeschlagenen Wege:

Die Niederschläge wurden in einer Reibeschale fein verrieben und dann in einem Kolben mit 20%iger Salzsäure auf freiem Feuer erhitzt. Die auf diese Weise freiwerdenden Gase wurden durch ein Rohr in eine 3%ige Quecksilbercyanidlösung und von dieser weiter in eine 5%ige Sublimatlösung geleitet, die mit der Außenluft kommunizierte. Dabei entstand in der $HgCN$ -Lösung ein gelblich-grüner und in der $HgCl_2$ -Lösung ein weißer Niederschlag. Nach etwa einstündigem Erhitzen, wobei das überdestillierte HCl aus einem Tropftrichter öfters durch konzentrierte Salzsäure ersetzt wurde, waren die Quecksilberverbindungen bis auf das HgS zersetzt.

Die Niederschläge wurden sorgfältig gewaschen und nach längerem Aufenthalte im Vacuumexsikkator analysiert.

Die Analyse lieferte folgende Werte

1. Für die gelblich grüne Verbindung:

0,2722 g Substanz gaben 0,2160 g HgS

Gefunden: $Hg = 68,4\%$

0,2447 g Substanz gaben 0,1943 g HgS

Gefunden: $Hg = 68,53\%$

Berechnet für $C_2H_6S_2Hg$: $Hg = 68,02\%$.

2. Für die weiße Verbindung:

0.2012 g Substanz gaben 0.1301 g HgS

0.1999 „ „ „ 0.1292 „ „

Gefunden: Hg = 55.71 %

„ = 55.68 %

Berechnet für $C_4H_{10} \cdot SHgCl_2$: Hg = 55.40 %

Somit haben wir es im ersten Falle mit Hg-Methylmerkaptid und im zweiten mit HgCl₂-Äthylsulfid zu tun.

Fassen wir zum Schluß noch einmal die Resultate zusammen, so ist es gelungen, auf einem der Darmfäulnis analogen Wege aus Cystin die bisher bekannten gasförmigen schwefelhaltigen Stoffwechselprodukte, den Schwefelwasserstoff, das Methylmerkaptan und das Äthylsulfid, zu erhalten, und es ist damit für dieselben ebenso als einheitliche Quelle das Cystin sicher gestellt, wie für das Taurin, die Sulfate, den nichtoxydierten Schwefel und die unterschweflige Säure. Für letztere geht aus den obigen Versuchen hervor, daß ihre Bildungsstätte aller Wahrscheinlichkeit nach in den Darm zu verlegen ist.

Sollte sich in Zukunft herausstellen, daß neben dem Cystin noch andre schwefelhaltige Bestandteile im Eiweiß enthalten sind, so dürften dieselben für den Stoffwechsel in der angegebenen Richtung von untergeordneter Bedeutung sein.