

Über das Verhalten von zugeführtem Indol und Skatol im Organismus.

Von
Dr. Paul Grosser.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)
(Der Redaktion zugegangen am 29. März 1905.)

Über die quantitativen Verhältnisse der Umsetzung des in den Tierkörper eingeführten Indols hat Wang¹⁾ Versuche an Hunden angestellt. Er verfütterte Indol und bestimmte das gebildete Indikan sowie die Ausscheidung der Ätherschwefelsäuren. Dabei kam er zu folgenden Resultaten:

1. Indol wird vom Darmkanal aus innerhalb 24 Stunden durch den Harn ausgeschieden.
2. Es wird eine geringere Menge Ätherschwefelsäure, als dem gegebenen Indol entspricht, ausgeschieden.
3. Etwa die Hälfte von dem gegebenen Indol wird als indigobildende Substanz ausgeschieden.
4. Neben indoxylschwefelsaurem Kalium werden auch noch andere gepaarte Schwefelsäuren gebildet.

Während wir also für den Hund Untersuchungen dieser Art besitzen, fehlen solche fast vollständig für das Kaninchen. Deshalb habe ich in mehreren Versuchen Kaninchen Indol, das aus den Fäulnisversuchen von E. und H. Salkowski stammte, subkutan und per os eingegeben, um die ausgeschiedene Indikanmenge sowie die Vermehrung der Ätherschwefelsäure quantitativ zu bestimmen.

Dem Tiere wurde jedesmal 0,1 g der Substanz eingeführt, und zwar bei der Eingabe per os in Alkohol gelöst und mit Gummi arab. emulgiert, bei der subkutanen Darreichung in

¹⁾ Wang, Diese Zeitschrift, Bd. XXVII, S. 577.

ölicher Lösung. Das Indol löst sich sowohl in Alkohol als auch in Öl schnell und vollständig. Auch die öliche Lösung wird per os gut vertragen; ich habe sie später aus einem äußerlichen Grunde angewandt, weil nämlich der Geruch der ölichen Lösung nicht so intensiv an den Fingern des Untersuchers haftet wie der der alkoholischen. Zur Lösung wurden je 10 ccm Flüssigkeit benutzt und die Spritze dann mit einigen Kubikzentimetern Alkohol bzw. Öl nachgespült.

Die Anordnung der Versuchsreihe war folgende: Auf eine zweitägige Vorperiode, in der das Tier ein abgewogenes Quantum Futter erhielt, folgten 3 zweitägige Perioden, während welcher das Tier bei gleichem Futter dreimal 0,1 g Indol per os erhielt. Darauf folgte eine zweitägige Nachperiode, die zugleich Vorperiode für die nun folgende Reihe der subkutanen Indoldarreichung war, bei der dem Tier zweimal 0,1 g Indol subkutan injiziert wurden.

Das Tier fraß das aus Kohl und Rüben bestehende Futter fast gleichmäßig, nur hin und wieder ließ es geringe Mengen liegen, so daß man sicher sagen kann, daß die Freblust durch das zugeführte Indol keine Einbuße erleidet.

Bei der Vorperiode wurde kein Indikan ausgeschieden. Sowohl die Probe nach Jaffé mit Salzsäure + Chlorkalk, als auch die nach Obermeyer mit Eisenchlorid + Salzsäure nach vorausgegangener Fällung mit basischem Bleiacetat ließ keine Spur erscheinen. Anders nach der Indoleingabe. Zwar zeigte der Harn kein schillerndes Häutchen, wie es bei der geringen Menge der zugeführten Substanz auch nicht zu erwarten war, wohl aber ließ sich nach Füllen des Harns mit Bleiessig und Versetzen des Filtrats mit rauchender Salzsäure, die ca. 4 g FeCl_6 im Liter gelöst enthielt, ein tiefblauer Chloroformauszug erhalten. Ich darf daher wohl die gesamte Menge des erhaltenen Indikans auf Rechnung des eingegebenen Indols setzen. Was nun die Methode der quantitativen Bestimmung des Indikans betrifft, so hielt ich mich an die Vorschriften Wangs,¹⁾ mit der Änderung, daß ich nicht Bleizucker, sondern Bleiessig zur Fällung benutzte. Ich versetzte eine genau abgemessene Menge

¹⁾ Wang, Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 406 und Bd. XXVII, S. 135.

Harn mit Bleiessig, filtrierte und versetzte einen aliquoten Teil des Filtrats mit der gleichen Menge der oben erwähnten Salzsäure-Eisenchloridlösung. Diese Mischung ließ ich nach der Angabe von Salkowski¹⁾ 5—10 Minuten im Schütteltrichter stehen: nach dieser Zeit hatte die zuerst bernsteingelbe Lösung sich tiefbraun gefärbt. Nunmehr wurde die Mischung mit Chloroform ausgeschüttelt, bis das Chloroform keinen Farbstoff mehr aufnahm. In der Regel genügte 3—5maliges Ausschütteln. Nun wurde das Chloroform abdestilliert und der Rückstand auf dem Wasserbade getrocknet. Er bildete eine braune, schmierige Masse, die intensiv nach p-Kresol roch; nur ganz vereinzelt sah ich zwischen diesen malzextraktähnlichen Rückständen feine dunkelblaue Schlieren. Es handelte sich nun darum, diesen Rückstand zu reinigen. Dazu standen mir drei Methoden zur Verfügung.

1. Nach Wang mit Alkoholätherwassermischung.

Diese Methode fand ich nicht empfehlenswert. Wie es auch Salkowski bei seinen Versuchen beobachtet hat, löst sich nicht nur die braune Harzmasse, sondern auch ein nicht unbeträchtlicher Teil des blauen Farbstoffes mit ab, der dann nur mit Verlusten wieder in heißem Chloroform lösbar ist.

2. Nach Ellinger¹⁾ mit heißem Wasser.

Hierbei habe ich niemals ein Loslösen beobachtet. Ich wusch solange, bis das Waschwasser mit Millonschem Reagens keine Färbung und mit Bromwasser keine Trübung mehr gab.

3. Nach Maillard.²⁾ Hierbei wird die Chloroformlösung vor dem Abdestillieren mit 0,1%iger Natronlauge im Scheidetrichter geschüttelt und das abgetrennte Chloroform dann abdestilliert. Dabei gehen die Phenolderivate größtenteils in die Natronlauge über, denn der Destillationsrückstand ist nunmehr nur noch wenig verunreinigt.

Versetzt man ihn nun mit 10 ccm konzentrierter Schwefelsäure zur Überführung in Indigosulfosäure, so entsteht eine olivgrüne Lösung, die mit der Zeit tief dunkelblau wird. Der

²⁾ Salkowski, Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 236 ff.

¹⁾ Ellinger, Diese Zeitschrift, Bd. XXXVIII.

²⁾ Maillard, Diese Zeitschrift, Bd. XLI, S. 436.

Farbenwechsel entspricht völlig dem bei der Bereitung von Indigosulfosäure aus reinstem Indigo auftretenden. Die Schwefelsäurelösung ließ ich 24 Stunden stehen und goß sie dann in ca. 50 ccm destillierten Wassers, wobei eine schön blau gefärbte Lösung resultierte. Das 24stündige Stehen ist empfehlenswerter als das kürzere Digerieren auf dem Wasserbade; die Lösung wird klarer. Die verdünnte Sulfosäurelösung ist stets rein blau, wenn die Reinigung nach Maillard durchgeführt ist, nach Ellinger ist oft ein olivgrüner Ton vorhanden.

Als Titrationsflüssigkeit benutzte ich eine nach der Vorschrift von Wang verdünnte KMnO_4 -Lösung, die ich auf Oxalsäure stellte und für Indigo mit dem Faktor 1,04 multiplizierte. Eine Kontrollbestimmung mit reinstem Indigo (der mir von Bad. Anilin- und Sodafabriken bereitwilligst zur Verfügung gestellt worden war) ergab keine Abweichung von diesem berechneten Werte. Was nun die Titration betrifft, so stieß sie insofern auf Schwierigkeiten, als nicht wie beim Menschen-, Hunde- und Rinderharn ein prompter Umschlag von blau zu gelblichweiß erfolgte, sondern nach Zusatz einiger Kubikzentimeter die Lösung gelbgrün wurde, um dann nach weiterem Zusatz von sehr viel Permanganat schließlich gelbrot zu werden. Es handelte sich darum, festzustellen, welcher Umschlag der richtige ist. Zu diesem Zwecke setzte sich zu 100 ccm normalen indikanfreien Harns, der wie zur Indikanbestimmung vorbereitet und gereinigt war, 10 ccm der Indigosulfosäurelösung von bekanntem Indigogehalt. Beim Umschlag zu gelbgrün war das dem Indigogehalt entsprechende Quantum Permanganatlösung verbraucht, vermehrt um 1 ccm, entsprechend 0,46 mg Indigo. Also zeigte dieser Umschlag ins Gelbgrüne die Vollendung der Indigooxydation an. Der Mehrverbrauch ist auf Rechnung der nach der Reinigung noch zurückgebliebenen reduzierenden aromatischen Substanzen zu setzen, die aber bei dieser geringen Menge ohne Fehler zu vernachlässigen sind.

Die außerdem vorgenommenen Stickstoffbestimmungen werden nach Kjeldahl ausgeführt. Hinsichtlich der Bestimmung der Gesamtschwefelsäure und Ätherschwefelsäure richtete ich mich nach der in dem «Praktikum» von E. Salkowski ge-

gegebenen Vorschrift: die Mengen sind durchgängig nicht als BaSO_4 , sondern als H_2SO_4 angegeben.

Es kam mir nun darauf an, festzustellen:

1. das Verhältnis der eingegebenen Indolmenge zur Menge der ausgeschiedenen indigobildenden Substanz,
2. das Verhältnis des eingegebenen Indols zur ausgeschiedenen Ätherschwefelsäure,
3. das Verhältnis der ausgeschiedenen indigobildenden Substanz resp. des Indigoblaus zur ausgeschiedenen Ätherschwefelsäure,
4. das Verhältnis der Sulfat- zur Ätherschwefelsäure.

Betrachten wir zuerst das Ergebnis der einzelnen Versuchsperioden, die sich jeweils über zwei Tage erstreckten:

Ver- suchs- periode	Indol- ein- gabe g	Harn- menge ccm	Spez. Gew.	Ge- samt- N in g	Ausge- schie- dener Indigo in mg	Berech- net auf das ge- gebene Indol %	Ge- samt- H_2SO_4 in g	A Sulfat- H_2SO_4 in g	B Äther- H_2SO_4 in g	A : B	Bemerkungen
I	—	780	1017	2,3400	—	—	1,0870	1,0345	0,0525	19,7 : 1	
II	0,1 per os	530	1016	3,096	18,05	16,1	1,125	—	—	—	Die Ätherschwefelsäure konnte aus äußeren Gründen nicht bestimmt werden.
III	0,1 per os	400	1022	3,410	18,30	16,4	1,089	0,9908	0,0982	10 : 1	
IV	0,1 per os	760	1017	3,410	19,6	17,4	1,504	1,4143	0,0897	15,8 : 1	
V	—	680	1017	3,080	—	—	1,0720	1,0226	0,0494	20,7 : 1	
VI	0,1 sub- kutan	740	1017	2,300	34,4	29,8	1,0250	0,9361	0,0889	10,5 : 1	
VII	0,1 sub- kutan	800	1015	2,260	33,0	29,5	1,1790	1,0908	0,0882	12,3 : 1	
VIII	—	480	1020	1,785	—	—	1,0980	1,0536	0,0445	23,6 : 1	

Das Resultat dieser Versuche ist nunmehr folgendes:

Nach Einführung von Indol tritt in dem sonst völlig

indikanfreien Harn indigobildende Substanz auf. Zugleich erfolgt eine Vermehrung der Ätherschwefelsäure auf Kosten der Sulfat-schwefelsäure. Von dem eingeführten Indol wird nur ein geringer Teil als Indigo wieder ausgeschieden: bei Einführung in den Magen 16—17%, bei subkutaner Darreichung im Mittel 30%: Wang hat für den Hund bei Darreichung per os im Mittel 50% gefunden. Der Unterschied in der ausgeschiedenen Menge bei subkutaner Injektion und Darreichung per os beruht wohl darauf, daß bei letzterer Methode das Indol längere Zeit im Darmkanal bleibt und dort größtenteils zerstört wird; unverändertes Indol war in den Faeces nicht nachzuweisen. Allerdings glaube ich nicht, daß das Indol gänzlich zerstört wird, sondern daß es zum Teil in eine nahestehende zyklische Verbindung übergeführt wird. Diese Annahme stütze ich auf folgende Betrachtungen:

Berechnen wir die zur Deckung des ausgeschiedenen Indigos nötige Menge Ätherschwefelsäure, so finden wir, daß sie bedeutend kleiner ist als die tatsächlich vorhandene.

Versuchsperiode	Aus- geschiedener Indigo mg	Ent- sprechende H ₂ SO ₄ mg	Gefundene Äther-H ₂ SO ₄ Vermehrung mg	Von der gefundenen H ₂ SO ₄ ist also durch Indigo gedeckt	
0.1 g Indol per os	III	18.30	13.61	49.4	27.5%
	IV	19.62	14.51	40.9	35.4%
0.1 g Indol subkutan	VI	33.40	24.71	40.1	61.3%
	VII	33.07	24.47	39.4	62.1%

Es sind also in dem Falle der geringsten Indigoausscheidung nur 27,5% der ausgeschiedenen Ätherschwefelsäure durch Indigo gedeckt. 72,5% müssen demnach mit anderen zyklischen Verbindungen gepaart den Organismus verlassen haben: in dem Falle der größten Indigoausscheidung sind 61,3% der ausge-

schiedenen Ätherschwefelsäure durch Indigo gedeckt, 38.7% sind also auch hier mit anderen Verbindungen gepaart.¹⁾

Ähnliche Verhältnisse hat Wang gefunden: «Die Indigomenge ist aber nicht so groß wie die der Ätherschwefelsäuren, selbst wenn man die ganze Indigomenge als indoxylschwefelsaures Kalium betrachtet, was jedenfalls nicht richtig ist, indem auch eine andere indigobildende Substanz, welche aber keine Schwefelsäure abspaltet, vorhanden ist. Außer Indoxyl ist es also auch notwendig, eine Bildung von anderen Oxydationsprodukten, welche kein Indigo liefern, sondern sich als gepaarte Schwefelsäuren ausscheiden, anzunehmen.» Wang nimmt an, daß sich vielleicht neben Indoxyl auch andere Oxydationsprodukte bilden, wie Oxindol, Dioxindol und Isatin; diese werden nicht als indigobildende Substanzen ausgeschieden. Darüber, daß sie aber eine Vermehrung der Ätherschwefelsäuren bewirken, hat er sich durch Selbstversuche überzeugt.

Auch ich vermag nicht sicher anzugeben, worauf dieser Überschuß beruht: für nicht ganz ausgeschlossen halte ich es, daß ein Teil des zugeführten Indols methyliert und so zu Skatol umgewandelt wird. Denn einmal wissen wir, daß dem Tierkörper die Fähigkeit zukommt, die Methylgruppe in gegebene Verbindungen einzuführen, und dann bemerkte ich beim Kochen des Harns der Indolperioden mit Salzsäure eine intensive Rotfärbung. Ob diese eventuell auf Skatolrot zurückzuführen ist, kann erst festgestellt werden, wenn wir über diesen Körper etwas Genaueres wissen.

Was nun die Frage anbetrifft, wieviel von dem gegebenen Indol als schwefelsaure Verbindung ausgeschieden ist, so gibt darüber folgende Tabelle Auskunft:

¹⁾ Korrigiert man diese Zahlen nach den Angaben von Ellinger, wonach nur 85% des ausgeschiedenen Indikans durch die Titration bestimmt werden, so werden diese angegebenen Werte kaum nennenswert verändert; z. B. in III statt 18.3 mg 21.4 mg; in VI statt 33.4 mg 39.3 mg; auf die Berechnung des Schwefelsäureüberschusses bleibt dies ohne jeden Einfluß.

Periode	0.1 g per os		0.1 g subkutan		
	III	IV	VI	VII	
Gepaarte Schwefelsäure während der Indolgabe	98.2	89.7	88.9	88.2	in mg (H ₂ SO ₄)
Gepaarte Schwefelsäure im normalen Harn (Mittel von 3 Beobachtungen)	48.8	48.8	48.8	48.8	
Überschuß der gepaarten Schwefelsäure	49.4	40.9	40.1	39.4	
Gepaarte Schwefelsäure, die der Menge des zugeführten Indols (0.1 g) entspricht	83.9	83.9	83.9	83.9	
Differenz	34.5 mg = 41%	43 mg = 51.2%	43.8 mg = 52.2%	44.5 mg = 53%	

Wir sehen also, daß zirka die Hälfte des Indols gepaart mit Schwefelsäure den Organismus verläßt. Über den Verbleib der anderen Hälfte vermag ich keine Angaben zu machen.

Aus diesen Versuchen geht hervor:

1. Im normalen Kaninchenharn ist keine indigobildende Substanz vorhanden, wie schon F. Blumenthal und C. Lewin¹⁾ u. a. nachgewiesen haben.

2. Das gegebene Indol wird während zweimal 2½ Stunden vollständig ausgeschieden.

3. Es wird weniger Ätherschwefelsäure ausgeschieden, als dem gegebenen Indol entspricht, dagegen mehr, als durch den ausgeschiedenen Indigo zu Indigoätherschwefelsäure gebunden werden kann.

4. Von dem gegebenen Indol wird bei subkutaner Injektion ca. 30%, bei Verfütterung ca. 16% als indigobildende Substanz ausgeschieden.

5. Die Bildung der Ätherschwefelsäure erfolgt auf Kosten der Sulfatschwefelsäure.

¹⁾ Hofmeisters Beiträge zur chem. Phys. etc., Bd. I, S. 472.

In gleicher Weise wollte ich nun das Verhalten von eingegebenem Skatol im Organismus prüfen. Genau entsprechend der Anordnung der Indolversuche, gab ich dem Kaninchen in zweitägigen Perioden je 0,1 g Skatol in Öl gelöst ein, und zwar zweimal per os und zweimal subkutan. Leider war es mir aber nicht möglich, im Harn das Skatol resp. seinen Abkömmling quantitativ zu bestimmen, da ich es nicht in eine der quantitativen Bestimmung zugängige Form überzuführen vermochte. Über die Versuche, den Skatolfarbstoff zu isolieren, will ich später sprechen und jetzt den einzigen meßbaren Effekt der Skatolfütterung betrachten, die Änderung der Schwefelsäureausscheidung.

Auch hier handelt es sich um zweitägige Perioden, die sich im einzelnen folgendermaßen verhalten:

Periode	Skatol- eingabe g	Harn- menge ccm	Spez. Ge- wicht	Ge- samt- N in g	Ge- samt- H ₂ SO ₄ in g	A Sulfat- H ₂ SO ₄ in g	B Äther- H ₂ SO ₄ in g	A : B
I	—	990	1012	2,993	1,352	1,285	0,067	19,5 : 1
II	0,1 per os	840	1014	2,745	1,179	1,046	0,133	7,9 : 1
III	0,1 per os	930	1012	2,527	1,077	0,984	0,093	10,6 : 1
IV	—	640	1019	2,041	1,053	0,982	0,071	13,8 : 1
V	0,1 subkutan	820	1014	2,017	1,436	1,301	0,135	9,6 : 1
VI	0,1 subkutan	740	1016	1,533	1,439	1,335	0,094	14,3 : 1
VII	—	750	1016	2,058	1,474	1,387	0,087	16,1 : 1

Die Schwefelsäureausscheidung war in dieser Versuchsreihe nicht annähernd so gleichartig wie in der Indolversuchsreihe. Während ich in den indolfreien Perioden für die Ge-

samtschwefelsäure 1,08, 1,07 und 1,09 g erhielt, waren die Werte für die skatolfreien Perioden 1,35, 1,05 und 1,38 g, also bedeutend schwankender; ebenso verhält es sich mit den Werten für die Ätherschwefelsäuren dort: 0,052, 0,049 und 0,044 g, hier 0,067, 0,071 und 0,087 g. Ich verzichte deshalb darauf, über die Vermehrung der Ätherschwefelsäuren in einzelnen Betrachtungen anzustellen, denen jede positive Grundlage fehlen würde, da ich aus so schwankenden Zahlen keinen normalen Durchschnittswert nehmen kann.

Nur den Umstand möchte ich hervorheben, daß nämlich die Ätherschwefelsäureausscheidung bei der Skatoleingabe anders verläuft als bei der Indoleingabe: während wir durch die Einführung des Indols eine in den einzelnen Perioden gleichmäßig auftretende Vermehrung der Ätherschwefelsäuren beobachten, ist bei der Skatoldarreichung diese Vermehrung zuerst sehr bedeutend, um dann wieder bedeutend geringer zu werden. Ich möchte deshalb annehmen, daß die Ausscheidung des Skatolabkömmlings verschieden von der des Indolderivates ist. Nur der skatolfreie Organismus reagiert auf die Einführung durch starke Schwefelsäurevermehrung, der skatolgewöhnte hingegen entledigt sich des Stoffes auf andere Art, vielleicht durch Bildung von Glukuronsäureverbindungen.

Mester¹⁾ fand beim Hunde nach Skatolfütterung überhaupt keine Vermehrung der Ätherschwefelsäure; dafür aber in den Faeces einen unveränderten beträchtlichen Teil des Skatols. Ich hingegen habe in den Faeces des Kaninchens nach der Skatolfütterung durch Destillation im Dampfstrom kein Skatol nachweisen können.

Der Nachweis des Skatolderivates im Harn nach Skatolzufuhr geschieht bekanntlich analog der Indikanreaktion. Man versetzt den Harn mit Salzsäure, dadurch entsteht eine purpurrote Färbung, die sich durch Amylalkohol extrahieren läßt. Weiter ist man im großen ganzen bisher nicht gekommen. Porcher und Hervieux,²⁾ die als letzte darüber gearbeitet haben, indem sie Hunden und Ziegen Skatol einspritzten, sagen unter Berücksichtigung der

¹⁾ Mester. Diese Zeitschrift, Bd. XII, S. 130.

²⁾ Porcher u. Hervieux, Comtes rendus, Bd. CXXXVIII, S. 1725.

früheren Arbeiten:¹⁾ Zur Hervorrufung der roten Färbung eignen sich alle Mineralsäuren, am besten der Zusatz eines gleichen Volumens rauchender Salzsäure; oxydierende Mittel können leicht wieder etwas von dem Farbstoff zerstören. Der Farbstoff wird extrahiert durch Amylalkohol und Amylacetat, nicht durch Äther, Petroläther, Benzol, Schwefelkohlenstoff und Chloroform. Der Amylalkoholauszug verliert durch Sodazusatz die Farbe, die durch Salzsäure wieder hervorgerufen wird. Aus dem Harn wird die Muttersubstanz des Farbstoffs durch neutrales Bleiacetat nicht gefällt, dagegen fast gänzlich durch Quecksilbernitrat und basisches Bleiacetat. Die beiden französischen Autoren halten den Farbstoff für identisch oder nahe verwandt mit dem von Nencki und Rosin beschriebenen Urorosein.

Ich versetzte nun den mit Essigsäure angesäuerten Harn der Skatolperioden mit ca. $\frac{1}{10}$ Volumen Bleiessig, filtrierte und mischte das Filtrat mit dem gleichen Volumen Salzsäure. Die erst farblose oder schwach gelbliche Flüssigkeit färbte sich bald rot: die rote Färbung wurde im Verlauf einiger Stunden noch intensiver, zum Unterschied vom indikanhaltigen Harn, der beim Stehen mit Salzsäure von der Blaufärbung durch Zerstörung des Farbstoffes einbüßt. Mit anderen Mineralsäuren konnte ich auch diese Rotfärbung erreichen (Salpetersäure im Überschuß aber zerstörte sie), dagegen nicht mit Essigsäure. Zusatz von Eisenchlorid oder Chlorkalk veränderte die Farbe nicht. Diese Harn-Salzsäuremischung schüttelte ich mit Chloroform: es ging kein Farbstoff über: ebensowenig in Benzol, Äther und Petroläther. Dagegen vermochte ich den Farbstoff mit Amylalkohol gänzlich, mit Essigäther größtenteils zu extrahieren. Verdünnte ich die rote Lösung bis zur Rosafärbung, so nahm der Essigäther keinen Farbstoff mehr auf. Dieses Extrakt wurde — ebenso wie die Harn-Salzsäuremischung — durch Natronlauge entfärbt: Zusatz von Salzsäure bewirkte wieder Rotfärbung. Der amyalkoholische Auszug zeigte im Spektrum eine schwach angedeutete Linie mit unscharfen Konturen zwischen

¹⁾ Brieger, Berichte der chem. Gesellsch., Bd. XIII, S. 279.

Diese Zeitschrift, Bd. IV, S. 414.

Otto, Pflügers Archiv, Bd. XXXIII, S. 607.

D und E. ebenso wie sie beim Urorosein beschrieben wird. Versuche, den Amylalkoholauszug einzuengen, blieben erfolglos, da sich jedesmal eine braune Schmiere bildete, die nichts mehr von den Eigenschaften der ursprünglichen Lösung zeigte.

Auch bei dem normalen Kaninchenharn vermochte ich nach Fällung mit Bleiessig und Zusatz von rauchender Salzsäure eine Rotfärbung zu erzielen, die alle oben erwähnten Eigenschaften zeigte, nur weniger intensiv war und daher nicht in Essigäther übergang.

Versetzte ich den in Wasser suspendierten Bleiniederschlag mit Schwefelwasserstoff, so färbte sich das Filtrat nach Salzsäurezusatz gleichfalls rot. Ein Beweis, daß die Muttersubstanz des Farbstoffs zum Teil in den Bleiniederschlag, zum Teil in das Filtrat ging.

Behandelte ich normalen Rinderharn, der besonders reich an Urorosein sein soll, auf die gleiche Weise, so erhielt ich dieselben Resultate wie beim Kaninchenharn; ich konnte keinen Unterschied im Verhalten dieses und des aus dem Harn des mit Skatol gefütterten Kaninchens erhaltenen Farbstoffes feststellen.

Da der Skatolfarbstoff in den Amylalkohol übergang, dieser Auszug aber beim Verdampfen seine Farbe verlor und sich offenbar tiefgehend veränderte, so war eine quantitative Bestimmung analog der Indikanbestimmung unmöglich. Es wurde daher versucht, den Farbstoff bei Darreichung größerer Quantitäten Skatol zu isolieren.

Zu diesem Zwecke benutzte ich nach der Methode von E. Fischer synthetisch dargestelltes Skatol, von dem ich 6 g zur Verfügung hatte. Davon injizierte ich einem Hunde subkutan 3 g in Öl gelöst in 2 Tagen. Am 2. Tage ging der Hund an einer Pneumonie zugrunde, 10 Stunden nach der letzten Einspritzung. Ich erhielt daher nur wenig Harn, im ganzen ca. 700 ccm. Von diesem Harn dampfte ich eine Portion unter Zusatz von rauchender Salzsäure ein, löste den Rückstand in Alkohol und filtrierte die braune Lösung. Das Filtrat dampfte ich wieder ein: ich erhielt eine braune, stark aromatisch riechende Schmiere, die sich nicht völlig in Natronlauge löste und von roter Färbung nichts mehr erkennen ließ. Ich versuchte

dann bei einer anderen Portion auf folgende Weise zum Ziele zu gelangen. Ich versetzte den Harn mit ca. $\frac{1}{10}$ Vol. Bleiessig, filtrierte, entbleite das Filtrat mit H_2S und setzte das gleiche Volumen rauchender Salzsäure hinzu. Dann ließ ich die Mischung 24 Stunden stehen, in der Erwartung, daß der Farbstoff spontan ausfallen würde. Nach dieser Zeit hatten sich aber nur so geringe Mengen eines schwarzroten Schlammes abgesetzt, daß sich die Verarbeitung nicht weiter lohnte.

Da nun auch weder Otto¹⁾ noch Mester²⁾ (der von Mester gefundene Farbstoff löst sich leicht in Chloroform und Äther, kann also keineswegs als Skatolrot angesprochen werden) mit ihren Methoden zum Ziele gekommen waren, so verfolgte ich einen ganz anderen Weg: Ich hatte beobachtet, daß bei der Schwefelsäurebestimmung des Harns nach Skatolfütterung der Baryumsulfatniederschlag intensiv rot gefärbt war und der rote Farbstoff sich gut mit Alkohol extrahieren ließ, ebenso wie ja bekanntlich bei indikanreichen Harnen der betreffende Alkoholauszug blau oder violett gefärbt ist. Der alkoholische Auszug zeigte eine schöne purpurrote Färbung. Ich benutzte also den Harn, den ich von einem Hunde nach zwei Injektionen von je 1,5 g Skatol erhielt, um ihn auf diese Weise zu behandeln.

1700 ccm Harn wurden mit 250 ccm rauchender Salzsäure bis zum Sieden erhitzt, darauf 200 ccm heißer Chlorbaryumlösung hinzugefügt und das Ganze ca. 10 Minuten im Sieden gehalten. Die Mischung blieb 24 Stunden stehen, wurde dann filtriert: das rot gefärbte Baryumsulfat wurde erst mit heißem Wasser, dann mit Alkohol ausgewaschen, bis der Alkohol sich nicht mehr färbte, der purpurrote alkoholische Auszug sodann zur Trockene eingedampft. Der Rückstand war lackartig glänzend, von braunroter Farbe, völlig geruchlos: am oberen Rand der Schale hatte sich ein blauer Rand, wohl von Indigoblau, gebildet.

Den Rückstand des Alkoholextraktes wusch ich mit Chloroform: es löste sich zuerst der oben erwähnte blaue Rand, sodann gingen aber auch rote Partikel in Lösung, so daß der Chloroformauszug schließlich tief rot gefärbt war. Da ich aber aus dem indigofreien Kaninchenharn niemals etwas von dem

¹⁾ Otto, l. c. ²⁾ Mester, l. c.

roten Farbstoff mit Chloroform extrahieren konnte, so nehme ich an, daß die durch Chloroform gelösten Teile den Indigo-farbstoffen angehören. Der Rückstand wurde sodann mit Aceton gewaschen. Auch hierin löste sich ein Teil davon aus, bedeutend mehr sogar als im Chloroform. Ich goß die rote Aceton-lösung in eine Schale und ließ das Aceton abdampfen.

Nun hatte ich zwei Rückstände:

1. einen nur in Alkohol,
2. einen in Alkohol und Aceton löslichen.

Beide löste ich vollständig in verdünnter Natronlauge und versetzte die Lösung mit verdünnter Salzsäure bis zur Neu-tralisation, wobei sich in jeder der beiden Lösungen ein braun-roter Farbstoff ausschied. Der Niederschlag wurde auf einer Nutsche abgesaugt und mit heißem Wasser gewaschen, bis das Waschwasser keine Chlorreaktion mehr gab. Während das Waschwasser von I ganz farblos blieb, war das von II, (das heiße leicht rosarot, das warme hellgelb) gefärbt, es war also etwas von dem Farbstoff in Lösung gegangen. Dann wurden beide Niederschläge im Vacuum über Chlorcalcium getrocknet.

Sie verhielten sich folgendermaßen:

Nieder-schlag	Aussehen	Alkohol	Aceton	Äther	Chloro-form	Essigäther	Amyl-alkohol
I.	Metallisch glänzen-des, schwarz-violettes, amorphes Pulver	Löslich mit purpurroter Farbe. Im Spektrum ein undeut-licher schmaler Streifen zwischen D und E.	Un-lös-lich	Un-lös-lich	Un-lös-lich	Wenig löslich mit hell-brauner Farbe	Größten-teils löslich mit braun-roter Farbe
II.	Metallisch glänzen-des, braun-rotes, amorphes Pulver	Löslich mit scharlach-roter Farbe. Im Spektrum ein Streifen zwischen D und E und einer zwischen Blau u. Grün	Wie in Alkohol	Etwas löslich mit rosa-roter Farbe	Wie in Äther	Nicht voll-kommen löslich mit rot-gelber Farbe	Völlig löslich mit roter Farbe

Mit Zinkstaub erhitzt gab I einen intensiven Geruch nach Skatol, der sich durch wiederholtes Erhitzen derselben minimalen Spur öfters erzeugen ließ: dabei schied sich ein öliger Tropfen ab, der beim Abkühlen kristallinisch erstarrte und sich durch die bekannten Reaktionen als Skatol identifizieren ließ: II dagegen gab einen schwachen Geruch, der nach einmaligem Erhitzen verschwunden war. Zu einer Elementaranalyse reichte leider das Material nicht, da ich nur eine Ausbeute von 0,13 g erhielt.

Ich glaube nun den Farbstoff I mit größter Wahrscheinlichkeit als den eigentlichen Skatolfarbstoff ansprechen zu dürfen. Daß er überhaupt ein Skatolderivat ist, zeigt die Destillation mit Zinkstaub: außerdem ist er aber so weit isoliert, daß er praktisch nur noch in Alkohol löslich ist. Zudem zeigt er denselben Absorptionstreifen wie das Urorosein; daß dieses aber ein Skatolderivat ist, ist nach den früheren Erörterungen im höchsten Grade wahrscheinlich.

Zum Schluß bleibt mir noch die angenehme Pflicht, Herrn Geh. Rat Salkowski für die Anregung zu dieser Arbeit und für die Unterstützung während ihres Verlaufes meinen aufrichtigen Dank auszusprechen.