

Über die Entstehung von Fäulnisbasen.

Von
D. Ackermann.

(Aus den physiologischen Instituten zu Marburg und Würzburg.)

(Der Redaktion zugegangen am 10. Juni 1909.)

Unter den Produkten, welche die Bakterien, speziell die Fäulnisbakterien bei ihrem Wachstum auf eiweißhaltigen Nährböden liefern, können wir zwei Gruppen unterscheiden. Erstens einmal diejenigen chemischen Körper, die bei der Spaltung des Eiweißes, sei es durch Säuern, sei es durch peptisches oder tryptisches Ferment, auftreten, also vor allem die Mono- und Diaminosäuren. Deren Entstehung bei der Eiweißfäulnis erklärt sich ungezwungen, wenn wir in den Bakterien ein tryptisches Ferment voraussetzen. Die zweite Gruppe von Substanzen indessen ist durch Hydrolyse von Eiweißkörpern bisher nie dargestellt worden, fand sich bei der Eiweißfäulnis jedoch mit großer Regelmäßigkeit. Es sind dies die beiden bekannten Briegerschen¹⁾ Diamine, Penta- und Tetramethyldiamin und die von den Gebrüdern E. und H. Salkowski²⁾ entdeckte δ -Aminovaleriansäure.³⁾

Da man diese Körper also nicht im Eiweiß vorgebildet fand, sah man sich bei Betrachtungen über den Modus ihrer

¹⁾ L. Brieger, Über Ptomaine, 1885, Berlin, Hirschwald.

²⁾ E. u. H. Salkowski, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXIV (1891), S. 1364.

³⁾ Auch die δ -Aminovaleriansäure wird den regelmäßig auftretenden Fäulnisprodukten zuzurechnen sein, denn E. u. H. Salkowski fanden sie bei Fäulnis von Fleisch, Fibrin und Leim. Von mir wurde sie bei der Pankreasfäulnis stets gefunden, und wie aus dieser Arbeit hervorgeht, auch bei der Caseinfäulnis.

Bildung während der Fäulnis nach Eiweißspaltungsprodukten um, deren Konstitutionsformel derjenigen der in Frage stehenden Körper möglichst ähnelte, sodaß man in ihnen dann Muttersubstanzen vermuten durfte, die durch eine geringfügige Modifikation, Abspaltung von CO_2 oder dergleichen direkt in die betreffende Fäulnisbase übergeführt werden konnten.

Für die δ -Aminovaleriansäure war das Arginin die gegebene Muttersubstanz, die vorzusetzen war. Als jedoch ein Fäulnisversuch mit einer größeren Menge Arginin zur Ausführung¹⁾ kam, fand sich zwar, daß dieses Eiweißspaltungsprodukt fast vollständig verschwunden war, von δ -Aminovaleriansäure aber fehlte jede Spur.

Das Pentamethyldiamin suchte man naturgemäß im Lysin, aus dem es ja durch Abspaltung von CO_2 entstehen könnte. Schon Baumann und v. Udranszky²⁾ haben die Möglichkeit dieses Bildungsmodus erwogen, nachdem bereits vorher E. Drechsel³⁾ in seiner grundlegenden Arbeit, die das Lysin als erste Frucht der neuen Methode brachte, darauf aufmerksam gemacht hatte, daß man in den durch Phosphorwolframsäure fällbaren Eiweißspaltungsprodukten vielleicht die Muttersubstanzen der Ptomaine vor sich habe. Dann wurde die Frage von Ellinger⁴⁾ experimentell geprüft und dieser beobachtete in einem Teil seiner Versuche die Bildung von Pentamethyldiamin bei der Fäulnis des Lysins.

Da diese Beobachtung von entscheidender Bedeutung ist, habe ich sie einer Nachprüfung unterzogen und im ganzen drei Versuche angestellt.

Bei dem ersten hielt ich mich genau an die von Ellinger gegebenen Versuchsbedingungen, nur arbeitete ich mit einer größeren Menge Lysin, indem ich 10 g des reinen d-Lysinchlorides in einem Liter Wasser löste, der Lösung Spuren von Kaliumchlorid, Natriumphosphat und Magnesiumsulfat zu-

¹⁾ D. Ackermann, Diese Zeitschrift, Bd. LVI, S. 305.

²⁾ E. Baumann u. L. v. Udranszky, Diese Zeitschrift. Bd. XIII, S. 590.

³⁾ E. Drechsel, Arch. f. Physiologie, 1891, S. 265.

⁴⁾ A. Ellinger, Diese Zeitschrift, Bd. XXIX, S. 334.

setzte und, nachdem die Flüssigkeit durch Zugabe von Soda schwach alkalisch gemacht war, mit einer Flocke faulen Pankreasgewebes¹⁾ impfte. Der Kolben, der mit dem Ganzen fast völlig erfüllt war, wurde durch einen doppelt durchbohrten Gummistopfen verschlossen. Durch die eine Öffnung des Stopfens führte ein Gaszuleitungsrohr bis auf den Boden des Kolbens. Dieses trug oben ein Stück Gummischlauch, welches durch einen Quetschhahn verschlossen werden konnte. Das durch die andere Öffnung gehende Glasrohr endete dicht unter dem Stopfen, während sein äußerer umgebogener Teil in Wasser tauchte. — Nachdem jetzt durch den Kolben eine halbe Stunde Wasserstoff geleitet war, wurde der Quetschhahn geschlossen und das ganze System bei 34° im Brutschrank belassen und zwar 4 Tage über.

Dann brach ich die Fäulnis ab, dampfte den Inhalt des Kolbens ein, filtrierte, säuerte mit Salzsäure schwach an und engte wiederum ein, ohne hierbei den für Fäulnis charakteristischen Geruch nach Fettsäuren wahrzunehmen.

Nachdem die Lösung auf einen Gehalt von 5% Schwefelsäure gebracht war, fällte ich mit Phosphorwolframsäure vollständig aus, zersetzte den entstandenen Niederschlag durch Baryt und stellte, unter Vermeidung von Verlusten, nach bekannter Methode einen Sirup der freien Basen dar. Dieser wurde nun mit alkoholischer Pikrinsäure solange versetzt, als noch eine Fällung entstand. Als dies nicht mehr der Fall war, saugte ich den Niederschlag ab, wusch ihn mit etwas absolutem Alkohol und fand, daß er nach dem Trocknen 14,8 g wog. Hierin mußte jetzt das Pentamethyldiamin, wenn es entstanden war, sich finden, neben vielleicht noch unversetztem Lysin, denn beide Basen liefern schwerlösliche Pikrate.

Eine Stickstoffbestimmung entschied diese Frage bereits fast völlig.

¹⁾ Dieses war nach Ellingers Vorschrift dadurch erhalten worden, daß etwas in Stücke zerhacktes Pankreasgewebe unter ganz schwacher Sodalösung in einem mit Wattebausch verschlossenen geräumigen Kolben an einem mäßig warmen Ort etwa 24 Stunden belassen war.

d-Lysinchlorid wurden in einem Liter Wasser gelöst, mit Soda-lösung schwach alkalisch gemacht, mit einer Flocke faulen Pankreasgewebes, das schon längere Zeit gestanden hatte, versetzt und in einer gewöhnlichen zugedickten Flasche bei 37° stehen gelassen. Des öfteren wurde umgeschüttelt und nachgesehen, ob die Reaktion noch alkalisch war.

Erst nach 50 Tagen nahm ich die Flasche aus dem Brutschrank, säuerte ihren Inhalt schwach mit Salzsäure an und dampfte ein, wobei sich ein penetranter Fäulnisgeruch entwickelte. Der entstandene Sirup wurde vom Kochsalz durch mehrmaliges Aufnehmen mit Methylalkohol möglichst befreit. Den Sirup, aus dem der Methylalkohol beseitigt war, fällte ich jetzt mit Platinchloridlösung, erhielt aber nur eine ganz geringe Menge eines feinkörnigen Niederschlages, der aus Ammoniumplatinat bestand, denn vom Platin befreit und so in das Chlorid verwandelt, gab dieser Teil trocken erhitzt keine Kohle, sondern er sublimierte. — Pentamethylendiamin hätte hier niedergeschlagen worden sein müssen, wenn es entstanden wäre. — Das Lysin war offenbar völlig verfault.

Somit ist es mir also in allen drei Fällen nicht gelungen, aus Lysin durch Fäulnis Pentamethylendiamin zu erhalten. Um diese negativen Resultate gegenüber dem Teile der Ellingerschen, die positiv ausfielen, zu erklären, wird man vielleicht anführen, daß die Fäulnisbakterien in verschiedenen Orten von wechselnder Art und deshalb verschieden wirksam seien, indessen muß ich bemerken, daß Versuch 1 und 2 in Würzburg, Versuch 3 in Marburg zur Ausführung kam, sodaß also in zwei Orten die Bedingungen für die in Frage stehende Fäulniswirkung nicht vorhanden waren.

Genau das gleiche wie am Lysin erfuhr ich nun auch an derjenigen Substanz, die man für die Entstehung des Tetramethylendiamins verantwortlich gemacht hat, dem Ornithin. Auch diesen Körper ließ Ellinger für sich faulen und beobachtete in einem Teil der Fälle das Auftreten von Tetramethylendiamin. Ich selbst verfüge nur über einen Versuch, der aber mit einer viel größeren Menge Ornithin angestellt war, jedoch negativ ausfiel. Er war ohne mein Zutun von

selbst eingeleitet worden, als ich 58 g Arginincarbonat¹⁾ hatte faulen lassen; hierbei war nämlich Ornithin in größerer Menge gebildet worden und dies hätte sich weiter in Tetramethyldiamin verwandeln müssen, denn die 16 Tage, während welcher die Fäulnis dauerte, boten hinlänglich Zeit dazu. Auch die δ -Aminovaleriansäure hatte ich damals vergeblich unter den Produkten der Fäulnis des Arginins gesucht.

Da es mir also nicht hatte gelingen wollen, die drei Basen durch Bakterienwirkung aus ihren mutmaßlichen Muttersubstanzen zu gewinnen, stellte ich mich auf den Standpunkt, daß nicht Lysin und Arginin, sondern andere Spaltungsprodukte der Proteinkörper es sein müßten, aus denen Pentamethyldiamin, Tetramethyldiamin und δ -Aminovaleriansäure bei der Eiweißfäulnis sich bilden. Nach Lage der Dinge war dann allerdings schon ein komplizierterer Prozeß, wie der einer einfachen Abspaltung von Gruppen vorauszusetzen, denn die noch übrig bleibenden Eiweißkomponenten haben, soweit sie bekannt sind, einen von dem der zu bildenden Basen recht verschiedenen Bau, sodaß man sich also die fragliche Umwandlung nur als eine Synthese vorzustellen hätte. Immerhin mußte der Versuch gemacht werden, und deshalb habe ich noch eine Reihe von Monoaminosäuren in größeren Mengen der Fäulnis ausgesetzt.

Eine sodaalkalische Lösung von 20 g Asparaginsäure, die 27 Tage lang gefault hatte, lieferte nach Beseitigung des Ammoniaks keine mit Phosphorwolframsäure fällbare Substanz mehr, sodaß also keine Fäulnisbasen gebildet waren. Die von F. Hoppe-Seyler²⁾ entdeckte Umwandlung der Asparaginsäure bei der Fäulnis in Bernsteinsäure konnte auch ich beobachten, denn in den sauren Ätherextrakt ging diese Säure über und ließ sich unter anderm durch ihr Silbersalz identifizieren.

0,1265 g Substanz lieferten 0,0822 g Ag.

Gefunden: Berechnet für bernsteinsaures Silber $C_4H_4O_4Ag_2$:
 Ag 65,0% 65,0%.

Ein Teil der Asparaginsäure schien noch unverändert zu sein, wenigstens gelang die Darstellung eines Kupfersalzes, das

¹⁾ l. c. S. 309.

²⁾ F. Hoppe-Seyler, Diese Zeitschrift, Bd. I, S. 213.

aber nicht krystallisieren wollte, sodaß ich, vorausgesetzt es handelte sich um asparaginsaures Kupfer, nicht angeben kann, wieviel es war.

Ferner ließ ich 14 g reine Glutaminsäure¹⁾ in einer sodaalkalischen Lösung von 1 l 33 Tage über faulen, fand von der Säure selbst nichts wieder, statt dessen aber eine größere Menge Fettsäuren, die ich aus der phosphorsauer gemachten Lösung abdestillieren konnte. Diese Fettsäuren riechen ganz intensiv nach Buttersäure, was zu der Angabe von Brasch und Neuberg²⁾ wie von Effront³⁾ und von Borchardt⁴⁾ stimmen würde, welche Buttersäure bei der Fäulnis von Glutaminsäure fanden. Als ich indessen die Lösung der Fettsäuren nach dem Neutralisieren durch Ammoniak mit Silbernitrat in zwei Fraktionen fällte, gelang es mir weder in der einen noch in der andern Fraktion, ein Salz vom Ag-Gehalt des buttersauren Silbers zu erhalten. Immer ergaben sich Werte, die mehr oder weniger gut zum Silbersalz der Essigsäure stimmten.

1.	0,1348 g Substanz gaben	0,0866 g Ag.
2.	0,1253 „ „ „	0,0899 „ „
3.	0,1434 „ „ „	0,0921 „ „
4.	0,1410 „ „ „	0,0122 „ „
5.	0,1166 „ „ „	0,0760 „ „
6.	0,1590 „ „ „	0,1032 „ „

	Gefunden:	Berechnet	Berechnet
1.	Silbersalz der Fraktion I 64,2%	für buttersaures	für essigsäures
2.	Silbersalz der Fraktion I	Silber $C_4H_7O_2Ag$:	Silber $C_2H_3O_2Ag$:
	nach dem Umkrystallisieren 64,6%	55,4%	64,6%
3.	Silbersalz der Mutterlauge		
	dieser Umkrystallisation 64,2%		
4.	Silbersalz der Fraktion II 63,1%		
5.	„ „ „ „ 65,2%		
6.	Silbersalz der Fraktion II		
	nach dem Umkrystallisieren 64,9%		

¹⁾ 0,1512 g Substanz gaben 12,3 ccm N bei $B = 748$ mm und $T = 11^\circ$, daraus berechnet sich 9,6% N, während Glutaminsäure 9,5% verlangt.

²⁾ W. Brasch u. C. Neuberg, Biochemische Zeitschrift, Bd. XIII, S. 299.

³⁾ J. Effront, C. r. d. l'Acad. des sciences, B. CXLVIII, S. 238.

⁴⁾ L. Borchardt, Diese Zeitschrift, Bd. LIX, S. 96.

Beim Umkrystallisieren der Silbersalze trat teilweise Reduktion ein, was im Zusammenhang mit dem gelegentlich zu hoch gefundenen Silberwert auf Spuren von Ameisensäure hinzuweisen scheint. Auch kann ich das Fehlen der Glutarsäure, an deren Bildung man nach Analogie der Entstehung von Bernsteinsäure bei der Fäulnis der Asparaginsäure hätte denken können, und die schon von Brasch und Neuberg vermißt wurde, bestätigen. Der saure Ätherextrakt enthielt nur eine Spur eines Öles, das nicht aus dieser Säure bestand. Mit Phosphorwolframsäure fällbare organische Basen hatten sich nicht gebildet.

20 g Glykokoll, die in sodaalkalischer Lösung 26 Tage gefault hatten, waren zum großen Teil unzersetzt geblieben, denn 18 g fanden sich wieder.

0,1194 g Substanz gaben 19,0 ccm N bei B. = 748 mm und T. = 12°.

Gefunden:	Berechnet für Glykokoll $C_2H_5NO_2$:
N 18,8%	18,7%.

Organische Basen hatten sich nicht gebildet; auch nicht Methylamin, an das man auf Grund der Konstitution des Glykokolls hätte denken können. Die Widerstandsfähigkeit von reinem Glykokoll gegen die Fäulnis ist übrigens bereits Nencki aufgefallen.¹⁾

Ebenso verhielt es sich mit 20 g Alanin, die ich 35 Tage faulen ließ. Ich fand 16,3 g Alanin wieder, von denen ich einen Teil in das Kupfersalz überführte.

0,1850 g Substanz gaben 0,0615 g CuO.

Gefunden:	Berechnet für Alaninkupfer $(C_3H_6NO_2)_2Cu$:
Cu 26,5%	26,5%.

Auch hier fehlten organische Basen.

So war also Asparaginsäure und Glutaminsäure sehr stark angegriffen worden, während auf das Glykokoll und Alanin die Fäulnisbakterien nur wenig eingewirkt hatten, sodaß es fast scheinen möchte, als ob die zweibasischen Monoaminosäuren der Fäulnis viel zugänglicher seien als die einbasischen.

¹⁾ M. Nencki, zitiert nach A. Ellingers Aufsatz über die Chemie der Eiweißfäulnis in Jahrgang VI von Asher u. Spiros Ergebnissen der Physiologie, S. 47.

Schließlich habe ich noch das Guanidin, das wir nur in Form von Arginin als einen Bestandteil des Eiweißmoleküls kennen, in den Kreis der Untersuchung gezogen. Dieser Versuch war nicht etwa schon in dem Fäulnisversuch mit Arginin, der früher angestellt wurde, enthalten, denn hierbei hatte sich ja nicht Guanidin, sondern Ornithin und offenbar Harnstoff, der allerdings nicht zum Nachweis kam, gebildet.

30 g Guanidincarbonat¹⁾ ließ ich in 2 l Wasser 10 Tage lang faulen. Nach dieser Zeit hatte sich Ammoniak gebildet, den ich durch Abdampfen beseitigte. Dann wurde das noch vorhandene Guanidin durch Pikrinsäure niedergeschlagen, der Niederschlag in das Chlorid und dies zu einem Teile in ein schwerlösliches Goldsalz verwandelt, das sich als Guanidinchloraurat erwies.

0,1308 g Substanz gaben 0,0644 g Au.

Gefunden:	Berechnet für $\text{CH}_5\text{N}_3 \cdot \text{HAuCl}_4$:
Au 49,2%	49,4%

Im Filtrat der Pikrinsäurefällung wurde auf Harnstoff gefahndet; ich beseitigte zu dem Zweck zuerst die Pikrinsäure durch Ausäthern in saurer Lösung, engte stark ein und bekam nun nach Zusatz von konzentrierter Salpetersäure unter Kühlung sofort Harnstoffnitrat, das sich, einmal aus wenig Wasser umkrystallisiert, durch Waschen mit Äther von Feuchtigkeit bequem befreien ließ und bei der Analyse sofort richtige Werte lieferte.

0,1019 g Substanz gaben 0,0362 g CO_2 und 0,0408 g H_2O .

0,1095 g Substanz gaben 32,9 ccm N bei B. = 747 mm und T. = 17°.

Gefunden:	Berechnet für Harnstoffnitrat $\text{CH}_5\text{O}_4\text{N}_3$:
C 9,7%	9,7%
H 4,5%	4,1%
N 34,8%	34,2%

Das Nitrat gab nach Behandeln mit Baryumcarbonat und Alkohol Krystalle, die trocken erhitzt sich in Biuret verwandelten.

Die hieraus sich ergebende Tatsache, daß Bakterien, also Pflanzenzellen imstande sind, Guanidin in Harnstoff zu verwandeln, kann vielleicht später noch einmal von Interesse für das Verständnis des Stoffwechsels in der Pflanze werden. Hat man doch bereits diese beiden Körper in pflanzlichen Organismen,

¹⁾ 0,1296 g Substanz gaben 52,6 ccm N bei B. = 747 mm und T = 17°. Gefunden: 47% N. Für Guanidincarbonat berechnet: 46,7% N.

das Guanidin in Wickenkeimlingen¹⁾ und Rübensäften,²⁾ den Harnstoff in höheren Pilzen³⁾ aufgefunden.

Außer Guanidin waren organische Basen in der Faulflüssigkeit auch dieses letzten Versuches nicht nachweisbar gewesen.

So hatte ich also auch in andern Spaltungsprodukten der Eiweißkörper vergeblich die Muttersubstanzen der drei Fäulnisbasen gesucht und neigte nun der Ansicht zu, daß es zur regulären Bildung von Pentamethyldiamin, Tetramethyldiamin und δ -Aminovaleriansäure des Vorhandenseins von ungespaltenem Eiweiß bedürfe, oder wenigstens eines solchen Eiweißabbauproduktes, das noch nicht in die einfachsten hydrolytischen Komponenten aufgespalten ist. Hierüber ließ sich Klarheit schaffen, wenn man einen Eiweißkörper durch Kochen mit Säure völlig spaltete, die Säure beseitigte und die ganze Summe der so erhaltenen Eiweißkomponenten faulen ließ. Traten dann die Basen nicht auf, so war die Annahme richtig, im andern Falle falsch.

Um also eine Entscheidung zu bringen, habe ich 400 g Casein (nach Hammarsten) mit 2400 ccm Wasser und 1200 g konzentrierter Schwefelsäure 24^{1/2} Stunden am Rückflußkühler gekocht, die Schwefelsäure bis auf geringe Mengen durch Baryt beseitigt, die Lösung auf ca. 4 l eingeengt und bei sodaalkalischer Reaktion nach dem Impfen mit einer faulen Pankreasflocke 48 Tage bei ca. 35° stehen lassen. Nach dieser Zeit dampfte ich die intensiv faul riechende Flüssigkeit, nachdem sie mit Phosphorsäure angesäuert war, auf ungefähr 2 l ein, fällte bei Gegenwart von Schwefelsäure mit Phosphorwolframsäure und ging jetzt zur Auffindung der drei Basen denselben, mir von Herrn Prof. Kutscher seinerzeit gewiesenen Weg,⁴⁾ den ich mit Erfolg schon bei Untersuchung eines Pankreasfäulnisgemisches benutzt hatte. Die Silberfällungen wurden zur Seite gestellt und nur dem zweiten Phosphorwolframsäure-

¹⁾ E. Schulze, Diese Zeitschrift, Bd. XVII, S. 193, 1893.

²⁾ v. Lippmann, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXIX, S. 2645.

³⁾ Bamberger u. Landsiedl, Monatshefte für Chemie, Bd. XXIV, S. 218 (1903). A. Goris u. M. Masevé, C. r. de l'Acad. des sciences, Bd. CXLVII, S. 1488. Bull. des sciences pharmacol., Bd. XVI, S. 82.

⁴⁾ Die Tanninfällung konnte in diesem Falle unterbleiben.

niederschlag Aufmerksamkeit geschenkt, aus dem ich die Basen in bekannter Weise frei machte, um sie nach dem Einengen mit alkoholischer Pikrinsäure zu versetzen.

Die so erhaltenen 14 g Pikrat wurden mit Salzsäure und Äther in die Chloride verwandelt. Diese fällte ich mit alkoholischer Platinchloridlösung und trennte die Platinfällung in einen in Wasser schwerlöslichen und einen darin leicht löslichen Teil. Der erstere bestand zu meiner Überraschung aus dem Platinate des Pentamethylendiamins.

0,1091 g Substanz gaben 0,0414 g Pt.

0,1051 „ „ „ 0,0397 „ „

Gefunden: Berechnet für $C_5H_{14}N_2 \cdot H_2PtCl_6$:

Pt 38,0%, 37,8% 38,1%

Auch als ein Teil des Salzes in das Chloraurat übergeführt war, zeigte es sogleich den der Pentamethylendiaminverbindung zukommenden Goldwert.

0,1229 g Substanz gaben 0,0620 g Au.

0,1071 „ „ „ 0,0542 „ „

Gefunden: Berechnet für $C_5H_{14}N_2 \cdot 2HAuCl_4$:

Au 50,5%, 50,6% 50,4%

Der in Wasser leicht lösliche Teil der gesamten Platinfällung enthielt Lysin.

0,1056 g Substanz gaben bei 130° getrocknet 0,0370 g Pt.

Gefunden: Berechnet für $C_6H_{14}N_2O_2 \cdot H_2PtCl_6$:

Pt 35,0% 35,1%

Es gelang auch mit Hilfe des Goldsalzes¹⁾ nachzuweisen, daß es sich um inaktives Lysin handeln mußte.

0,1269 g Substanz gaben 0,0597 g Au.

0,1524 g Substanz gaben 0,0478 g CO_2 und 0,0285 g H_2O .

Gefunden:	Berechnet für	
	inaktives	aktives Lysinchloraurat
	$[C_6H_{14}N_2O_2 \cdot 2(HAuCl_4)]_2$	$C_{12}H_{28}N_4O_4 \cdot HCl \cdot 3(HAuCl_4)$
	+ H_2O :	+ $2H_2O$:
Au 47,0%	47,2%	42,7%
C 8,6%	8,6%	10,4%
H 2,1%	2,1%	2,6%

So war denn also das bei der Schwefelsäurespaltung des Caseins gebildete aktive Lysin im Laufe dieses Fäulnisversuches wenigstens zum Teil in inaktives übergeführt worden.

¹⁾ D. Ackermann, Diese Zeitschrift, Bd. LVI, S. 313.

Das Filtrat der mit alkoholischer Pikrinsäure erzeugten Fällung wurde nun auch untersucht, mit Hilfe von Salzsäure und Äther in einen Sirup von Chloriden verwandelt und dieser mit alkoholischer Quecksilberchlorid- und alkoholischer Natriumacetatlösung gefällt. Den Quecksilberniederschlag befreite ich durch Schwefelwasserstoff vom Quecksilber, engte dann zum Sirup ein und beseitigte das vorhandene Kochsalz durch Aufnehmen mit Äthylalkohol. Jetzt wurde mit alkoholischer Platinchloridlösung versetzt und auch diese Platinfällung in einen in Wasser schwerlöslichen und einen darin leichtlöslichen Teil getrennt. Der in Wasser schwerlösliche Teil gab nach verschiedentlichem Umkrystallisieren 36,9, 37,3 37,0 % Pt; ich schloß aber hieraus nicht ohne weiteres auf Hexamethylen-diamin,¹⁾ dessen Platinsalz 37,0 % Pt verlangt, sondern verwandelte das Salz in das Chloraurat, und bei dessen Analyse ergab sich, daß ich es mit Tetramethylen-diamin zu tun hatte.

0,1115 g Substanz gaben 0,0570 g Au.

0,1044 „ „ „ 0,0534 „ „

0,1324 „ „ „ 0,0328 „ CO₂ und 0,0241 g H₂O.

Gefunden:

Berechnet für C₄H₁₂N₂ · 2HAuCl₄:

Au	51,1%, 51,2%	51,3%
C	6,8%	6,3%
H	2,0%	1,8%

Nun fand sich aber auch noch die dritte der fraglichen Fäulnisbasen, und zwar in dem Teil der Platinfällung, der in Wasser leichter löslich war. Schon das Auftreten von dunkelorange gefärbten größeren Krystallen, die in die Hauptmasse des hellgelben, feinen Krystallpulvers eingestreut waren, ließen in dieser Fraktion δ-Aminovaleriansäure erwarten. Ich führte das Platinat sogleich in das Chlorid über, gab Salzsäure und Goldchloridlösung hinzu und engte stark ein; jetzt genügte das Hinzufügen eines Körnchens von δ-Aminovaleriansäurechloraurat, welches ich noch besaß, um in kurzer Zeit fast die ganze Flüssigkeit in Krystalle dieses Salzes zu verwandeln; diese gaben dann auch die erwarteten Analysenzahlen.

¹⁾ A. Garcia, Diese Zeitschrift, Bd. XVII, S. 543.

0,1166 g Substanz gaben 0,0506 g Au.

0,1110 „ „ „ 0,0479 „ „

Gefunden:

Berechnet für $C_8H_{11}NO_2 \cdot HAuCl_4$.

Au 43,4%, 43,2%

43,1%

Neben dem Platinat der δ -Aminovaleriansäure fand sich dann in dieser Fraktion noch ein Platinsalz, das Metallwerte lieferte, die mich auf ein verunreinigtes Salz der δ -Aminovaleriansäure schließen ließen. Die Lektüre der Arbeit von E. Winterstein und A. Küng¹⁾ über das Auftreten von p-Oxyphenyläthylamin im Emmentaler Käse zeigte mir aber, daß dies der Wert für p-Oxyphenyläthylaminplatinat sei.

0,1132 g Substanz gaben 0,0321 g Pt.

0,1178 „ „ „ 0,0333 „ „

Gefunden:

Berechnet für $(C_8H_{11}NO)_2H_2PtCl_6$:

Pt 28,4%, 28,3%

28,5%

Auch, daß der Körper wohl mit Phosphorwolframsäure, nicht aber mit Pikrinsäure niederschlagen ist, deutete auf die genannte Base hin. Der positive Ausfall der Millonschen Reaktion endlich, den ich an dem Chlorid dann noch beobachten konnte, erhob es zur Gewißheit, daß es sich hier um p-Oxyphenyläthylamin handle, sicherlich eine weitere Bestätigung der Annahme von Winterstein und Küng, daß sich diese Base aus Eiweiß durch bakterielle Wirkung bilde.

Nachdem also der Nachweis geliefert war, daß die Fäulnisbakterien nicht nur Eiweiß, sondern auch seine Spaltungsprodukte von kleinem Molekül zur Bildung der drei Basen verwerten können, legte ich mir die Frage vor, ob der negative Ausfall der Fäulnisversuche mit nur einer solchen Eiweißkomponente nicht vielleicht seinen Grund in einer gewissen Einseitigkeit der Zusammensetzung des Nährbodens gehabt habe und ob nicht doch noch der Beweis geliefert werden könne, daß Lysin die Muttersubstanz des Pentamethyldiamins, Arginin die des Tetramethyldiamins und der δ -Aminovaleriansäure sei. Um diese Frage endlich nach der einen oder andern Seite hin zu beantworten, habe ich deshalb nochmals eine Menge von 200 g Casein (nach Hammarsten) mit 1200 ccm Wasser und

¹⁾ E. Winterstein u. A. Küng, Diese Zeitschrift. Bd. LIX, S. 138.

600 g konzentrierter Schwefelsäure 24 $\frac{1}{2}$ Stunden lang am Rückflußkühler gekocht und aus den Spaltungsprodukten nur das Arginin sorgfältig beseitigt, den Gehalt an Lysin aber fast verdoppelt und dann das ganze argininfreie, lysinreiche Spaltungsgemisch der Fäulnis ausgesetzt.

Bei der Darstellung des Ausgangsmaterials für diesen Versuch wurde besonders darauf geachtet, das Arginin möglichst vollständig zu entfernen, und ich habe deshalb nach Anwendung des Verfahrens von Kossel und Kutscher den Histidinniederschlag noch einmal in verdünnter Salpetersäure gelöst und unter Kontrolle von ammoniakalischer Silberlösung mit Ammoniak gefällt, ehe ich ihn mit Schwefelwasserstoff zersetzte und das schließlich erhaltene Histidin den andern, von ihren Fällungsmitteln befreiten Eiweißspaltungsprodukten hinzufügte. Auch das Lysin, welches ich nach Kossel als Pikrat gewann, wurde, um etwa anhaftendes Arginin zu beseitigen, obwohl dies auch ein ziemlich schwer lösliches Pikrat liefert, aus Wasser umkrystallisiert. Bevor das geschah, vermehrte ich aber das rohe Lysinpikrat noch um die gleiche Menge eines in meinem Besitze befindlichen Präparates und fand nach dem Reinigen dieses Gemenges durch Überführen eines geringen Teiles in das Goldsalz, daß es sich in der Tat um reines d-Lysin handelte.

0,1270 g Substanz gaben 0,0542 g Au.

Gefunden:	Berechnet für $C_{12}H_{23}N_4O_4 \cdot HCl \cdot 3(HAuCl_4) + 2H_2O$.
Au 42,7%	42,7%.

In das Gemisch der argininfreien Spaltungsprodukte gab ich schließlich eine Lysinmenge, die infolge der Reinigung etwas geringer war, als diejenige, welche man aus dem doppelten des von mir benutzten Caseinquantums, d. h. aus 400 g gewinnen kann.

Es wurden also nun die gesamten Monoaminosäuren nach Entfernung der Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure auch das Tyrosin und Leucin zusammen mit dem gereinigten Histidin und Lysin in sodaalkalischer Lösung in einer 2-Literflasche 45 Tage im Brutschrank faulen gelassen und dann in der bekannten Weise auf die Basen untersucht.

Ich fand diesmal wieder in dem Pikrinsäureniederschlag nur große Mengen Pentamethyldiamin und etwas Lysin. Das erstere ließ sich durch sein schwer lösliches Goldsalz, das Lysin durch das Platinat charakterisieren.

	0,1019 g Substanz gaben	0,0514 g Au.
	0,1147 „ „	0,0578 „ „
Gefunden:		Berechnet für $C_5H_{14}N_2 \cdot 2HAuCl_4$:
Au	50,5%, 50,4%	50,4%.
	0,1062 g Substanz gaben	0,0371 g Pt.
Gefunden:		Berechnet für $C_6H_{14}N_2O_2 \cdot H_2PtCl_6$:
Pt	34,9%	35,1%.

Das Filtrat der Pikrinsäurefällung wurde nun mit Hilfe von Salzsäure und Äther in die Chloride verwandelt. Diese fällte ich mit alkoholischer Quecksilberchlorid- und Natriumacetatlösung, stellte aus dem so erhaltenen Niederschlage in bekannter Weise die kochsalzfreien Chloride dar, worauf zu dem schließlich gewonnenen Sirup alkoholische Platinchloridlösung gegeben wurde. Die Fällung filtrierte ich ab und fand, daß sie in Wasser schwer löslich war, sodaß sich ein in Wasser leicht löslicher Teil nicht gewinnen ließ. Sie bestand zum größten Teil aus Ammoniumplatinat. Um dies zu entfernen, zersetzte ich den ganzen Platinniederschlag mit Schwefelwasserstoff, engte die Chloride stark ein und konnte durch Aufnehmen mit Alkohol das Ammoniumchlorid entfernen. Jetzt war nur noch ein geringer Sirup geblieben. Ich fällte ihn nach vorherigem Abdampfen des Alkohols mit Goldchloridlösung, erhielt aber nur 0,19 g eines Goldsalzes, das sich noch als Pentamethyldiaminaurat erwies.

	0,0998 g Substanz gaben	0,0506 g Au.
Gefunden:		Berechnet für $C_5H_{14}N_2 \cdot 2HAuCl_4$:
Au	50,7%	50,4%.

Da erfahrungsgemäß in dem zeitlich vor der Pikrinsäurefällung liegenden Silberniederschlag sich Tetramethyldiamin¹⁾ finden kann, wurde dieser daraufhin untersucht. Er enthielt aber nur noch etwas Lysin, das offenbar nicht ganz herausgewaschen war. Es wurde als Platinat identifiziert.

¹⁾ D. Ackermann u. P. Mey, Zentralblatt f. Bakteriologie usw., I. Abteilung, Bd. XLII, S. 630, 1906.

0,1082 g Substanz gaben 0,0379 g Pt.

Gefunden:	Berechnet für $C_6H_{14}N_2O_2 \cdot H_2 \cdot PtCl_6$:
Pt 35,0 %	35,1 %.

Tetramethyldiamin und δ -Aminovaleriansäure hatten sich somit bei diesem letzten Versuch überhaupt nicht gebildet.

Da also die Fäulnis sämtlicher Eiweißspaltungsprodukte die drei Basen ergibt, andererseits nur Pentamethyldiamin gebildet, Tetramethyldiamin und δ -Aminovaleriansäure aber vermißt werden, wenn man von den Proteinbausteinen das Arginin vorher wegnimmt, so ist erwiesen, daß das Arginin die Muttersubstanz des Tetramethyldiamins und der δ -Aminovaleriansäure ist. Des weiteren ist durch obige Versuche für das Pentamethyldiamin der Beweis erbracht, daß es aus dem Lysin stammt, denn würde es sich aus anderen Spaltungsprodukten gebildet haben, so wäre es nicht in annähernd gleichen Mengen aufgetreten in zwei Versuchen, in denen beide Male nur das Lysin in ungefähr gleicher Quantität zur Anwendung kam, während die anderen Spaltungsprodukte beim zweiten Versuche — vom Arginin, das ja überhaupt fehlte, ganz abgesehen — nur in halber Menge verwandt wurden; daß ich dieses zweite Mal etwas weniger Pentamethyldiamin — auf Pikrat umgerechnet ca. 11 g — als beim ersten Versuche — 13 g — erhielt, erklärt sich aus Verlusten, die das Reinigen des Lysins mit sich gebracht hatte.

Die Ellingersche Behauptung ist also für beide Diamine richtig und ferner wurde für die δ -Aminovaleriansäure zum erstenmal der Beweis erbracht, daß sie durch Fäulnis des Arginins entstehe.¹⁾

¹⁾ Nach Abschluß dieser Arbeit werde ich von Herrn Professor A. Kossel darauf hingewiesen, daß auch Pyrrolidincarbonsäure als Muttersubstanz der δ -Aminovaleriansäure bei der Eiweißfäulnis in Betracht gezogen werden müsse, weil die Formel der Pyrrolidincarbonsäure, wenn man eine Ringsprengung annimmt, eine solche Umwandlung zuläßt. Indessen ist die Pyrrolidincarbonsäure nach E. Winterstein (Diese Zeitschrift, Bd. XLI, S. 501) zum nicht unerheblichen Teil im Filtrat der Phosphorwolframsäurefällung eines Eiweißkomponentengemenges enthalten. Da ich nun in meinem Versuch die Körper dieser Fraktion mitfaulen ließ und keine Aminovaleriansäure fand, kann die Pyrrolidincarbonsäure nicht die Muttersubstanz der δ -Aminovaleriansäure sein.

Es fragt sich nun, welchen Sinn denn die Bildung der Basen für das Leben der Bakterien wohl haben mag, und es scheint mir ein gewisses Verständnis dafür, wenigstens was die Diamine angeht, angebahnt zu werden, wenn man eine andere Pilzart, nämlich die Hefe zum Vergleich heranzieht. Die Bildung des Tetramethyldiamins aus Ornithin und die des Pentamethyldiamins aus Lysin erfolgt ja durch einfache Abspaltung von CO_2 , ein Vorgang, den wir auch beim Zucker wahrnehmen, wenn ihn die Hefe in Alkohol verwandelt. Sollte die Tendenz, Kohlensäure aus verschiedenen Verbindungen frei zu machen, nicht eine im Reiche der Pilze überhaupt ziemlich allgemeine sein? Diese Ansicht bekommt eine wesentliche Stütze durch zwei Arbeiten, die aus dem Laboratorium von F. Kutscher hervorgegangen sind; in der einen zeigt nämlich M. Schenck¹⁾ das Vorkommen von Tetramethyldiamin in verschiedenen, selbstverdauten (ungefauten!) Hefearten; in der zweiten wird von Rieländer²⁾ erwiesen, daß die beiden «Fäulnisbasen» Tetramethyldiamin und Pentamethyldiamin sich im *Secale cornutum* finden, und ich halte auch in diesen beiden Fällen die Bildung der genannten Basen aus Ornithin (respektive Arginin) und Lysin für recht wahrscheinlich, sodaß ich Versuche in dieser Richtung mit Hefereinkulturen anstellen werde.

Durch einen Vergleich wie den obigen wird natürlich noch nichts erklärt, es ist aber zu hoffen, daß in demselben Augenblick, wo wir für den noch immer in seiner physiologischen Bedeutung unaufgeklärten Vorgang der Zuckervergärung durch Hefe Verständnis gewinnen werden, sich das gleiche Licht auch über die Bildung der beiden genannten «Fäulnisbasen» verbreiten wird. Dasselbe muß dann auch für das Oxyphenyläthylamin gelten, für welches nach der Arbeit von Winterstein und Küng das Tyrosin als Muttersubstanz mit großer Wahrscheinlichkeit anzusehen ist.

Die δ -Aminovaleriansäure steht bisher gesondert da, doch

¹⁾ M. Schenck, Wochenschrift f. Brauerei 1905, Nr. 16.

²⁾ Sitzungsberichte der Gesellschaft zur Beförderung der gesamten Naturwissenschaften zu Marburg, 1908, Nr. 7.

ist von Brieger eine als Mydatoxin¹⁾ bezeichnete Base mit der Formel $C_6H_{13}NO_2$ beschrieben worden, die er aus menschlichen Leichenteilen und aus faulem Pferdefleisch gewann. Auch ich habe den Körper als ein Produkt der Pankreasfäulnis höchstwahrscheinlich in der Hand gehabt, denn der Schmelzpunkt des betreffenden Platinates (193^0), sowie die gefundenen Pt-, C-, H- und N-Werte deckten sich mit denen des Salzes der Briegerschen Base; nach der Überführung in das Chloraurat bekam ich aber mehrere schlecht stimmende Analysenwerte, weshalb ich noch nichts hierüber veröffentlicht habe. Es ist mir nun sehr wahrscheinlich, daß dieser Körper gleichfalls ein verbreitetes Fäulnisprodukt vorstellt, und seiner Formel $C_6H_{13}NO_2$, nach darf man in ihm vielleicht das nächst höhere Homologe der δ -Aminovaleriansäure, nämlich die ϵ -Aminocaproonsäure erwarten, für die dann das Lysin die gegebene Muttersubstanz wäre.

Von besonderem Interesse würde es sein, nach der δ -Aminovaleriansäure, die mit so großer Regelmäßigkeit die Diamine begleitet, im Harn bei Cystinurie zu fahnden; derselbe enthält ja bekanntlich nach Baumann und v. Udranszky²⁾ Pentamethylendiamin- und Tetramethylendiamin. Im normalen Organismus wird die δ -Aminovaleriansäure allerdings anscheinend verbrannt, jedenfalls konnte ich sie im Harn nicht wieder auffinden, als ich einem Kaninchen innerhalb zweier Tage 4 g und einem Hunde in gleicher Zeit 2 g δ -Aminovaleriansäurechlorhydrat in sodaalkalischer Lösung subkutan injiziert hatte; die Tiere fühlten sich dabei wohl und fraßen mit Appetit, sodaß man außerdem diese Base als ungiftig³⁾ bezeichnen kann, eine Eigenschaft, die sie ja mit den Diaminen gemein hat.

Wenn man bei kommenden Eiweißfäulnisversuchen sein Augenmerk darauf lenkt, wird sich wohl bald als nächste im

¹⁾ Brieger, Ptomaine, Bd. III, S. 25 u. 32.

²⁾ E. Baumann u. L. v. Udranszky, Diese Zeitschrift, Bd. XIII, S. 562.

³⁾ Die Ungiftigkeit der Substanz wurde schon von E. u. H. Salkowski (Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XVI, S. 1191), allerdings mit geringeren Mengen erwiesen. Auch war vielleicht noch die Base $C_6H_{13}NO_2$ beigemischt, die sie als ein Homologes der δ -Aminovaleriansäure ansehen.

Bunde der typischen Fäulnisbasen das Oxyphenyläthylamin einstellen; merkwürdigerweise ist auch dies durch das Fehlen eines asymmetrischen Kohlenstoffatoms ausgezeichnet, eine Eigenschaft, die allen bekannten Eiweißfäulnisprodukten,¹⁾ soweit ihre Konstitution feststeht, zukommt, und das fällt um so mehr auf, als vom Glykokoll und Ammoniak abgesehen, sämtliche Spaltungsprodukte der Proteine ein asymmetrisches Kohlenstoffatom zeigen.

Die vorstehende Arbeit ist durch den Preis der Külz-Althoff-Stiftung ausgezeichnet worden.

Die nicht unbeträchtlichen Kosten, welche die Anschaffung der Reagenzien erforderte, wurden zum Teil aus dem Fond der Marburger Gräfin-Luise-Bose-Stiftung bestritten, aus der mir die medizinische Fakultät Geldmittel zur Verfügung gestellt hatte. Ich möchte derselben hierfür an dieser Stelle meinen Dank aussprechen.

¹⁾ Indol, Indolessigsäure, Indolpropionsäure, Skatol, Phenol, Cresol, p-Oxyphenylelessigsäure, p-Oxyphenylpropionsäure, Phenyläthylamin, Phenylelessigsäure, Phenylpropionsäure, Methylamin, Methylmerkaptan, Bernsteinsäure, Methan. — In einem andern Zusammenhang und allerdings zu einer Zeit, wo der Begriff des asymmetrischen Kohlenstoffatoms noch nicht vorhanden war, weist schon Pasteur auf die Tatsache hin, daß meist diejenigen Körper, welche vom Pflanzen- und vom Tierorganismus wesentlich zur definitiven Ausscheidung bestimmt sind, wie Oxalsäure, Fumarsäure, Harnstoff, Harnsäure, Kreatinin u. a., die Ebene des polarisierten Lichtes nicht drehen. (Louis Pasteur, deutsch von N. v. Mönbart, Straßburg, J. H. Ed. Heitz.)
