

Muskelchemie.

III. Mitteilung.

Über den Schwefel der glatten, der quergestreiften und der Herzmuskulatur, sowie der Myoproteine der Säugetiere.

Von

A. Costantino.¹⁾

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Neapel und der chemisch-physiologischen Abteilung der zoologischen Station.)

(Der Redaktion zugegangen am 30. August 1912.)

I. Einleitung.

Die Frage nach dem Ursprung des Schwefels im Stoffwechsel ist von nicht geringerer Bedeutung als die des Stickstoffs. Abgesehen von den Peptonen und Protaminen enthalten alle anderen Eiweißkörper Schwefel in ihrem Molekül. Das Verdienst, festgestellt zu haben, in welcher Weise der Schwefel in den Eiweißsubstanzen gebunden ist, gebührt Fleitmann,²⁾ der im Laboratorium des großen Liebig die ersten Experimente über die Spaltung der Eiweißkörper mittels Alkali ausführte. Seit jener Epoche beginnt das eingehendere Studium des Eiweißschwefels, wichtig nicht nur vom biochemischen, sondern auch vom rein chemischen Gesichtspunkte, und was einige Experimentatoren dazu benutzten, um die Größe des Eiweißmoleküls festzustellen.³⁾ Die Versuche zur Spaltung des Eiweißes mittels Alkali in Gegenwart von Bleiacetat brachten die Kenntnis, daß zum mindesten zwei Bindungsweisen des Schwefels

¹⁾ I.—II. Mitteilung, Biochem. Zeitschr., Bd. 37, S. 552, 1911; Bd. 43, S. 165, 1912.

²⁾ Th. Fleitmann, Über die Existenz eines schwefelfreien Proteins. Liebigs Ann., Bd. 61, S. 21, 1847. — Id., Bestimmungen des Verhältnisses, in welchem der Schwefel in seinen verschiedenen Formen in den schwefel- und stickstoffhaltigen Verbindungen enthalten ist. Liebigs Ann., Bd. 66, S. 380, 1848.

³⁾ Fr. N. Schulz, Die Größe des Eiweißmoleküls. Fischer, Jena 1903.

darin existieren müssen. Die Methodik ließ für lange Zeit viel zu wünschen übrig, und die widersprechenden Resultate der verschiedenen Autoren gaben den deutlichsten Beweis dafür. Es ging dies aus einer kritischen Arbeit von F. N. Schulz¹⁾ hervor, die sich auf die Arbeiten von Nasse,²⁾ Danilewski,³⁾ Krüger,⁴⁾ Suter⁵⁾ und Malerba⁶⁾ bezieht.

Genannter Autor wies deutlich den schädlichen Einfluß der Anwesenheit des atmosphärischen Sauerstoffs bei jenen Untersuchungen nach. Er arbeitete gleichzeitig mit Eiweißkörpern und mit einigen einfachen geschwefelten Eiweißderivaten und legte folgende Tatsachen fest: Schwefelderivate, wie Schwefelnatrium, schwefligsaures Natrium, Kaliummethylsulfat, Taurin spalten beim 10stündigen Behandeln mit Soda und Bleiacetat in sauerstofffreier Atmosphäre keinen Schwefel ab. Thioschwefelsaures Natrium spaltet die Hälfte, Schwefelharnstoff den ganzen, Cystin und Cystein 52% des Schwefels ab.

Hieraus geht hervor, daß der Anteil des Schwefels, den das Blei bindet, in Beziehung zu dem Schwefel, der sich in nicht oxydierter Form findet, ein sehr relativer ist. Gleichviel haben derartige Versuche immerhin Bedeutung für vergleichende Studien, indem es möglich ist, auf diese Weise Unterschiede festzustellen, die man auf anderem Wege bisher noch nicht erhalten hat. Zwar kennt man heute die Gegenwart des Cystins im Eiweißmolekül, doch hat man über keine andere Bindungsweise noch volle Sicherheit.

Daß der Schwefel, den das Blei bindet, nicht nur aus dem Cystin stammt, sondern auch aus anderen Eiweißderivaten, geht aus einigen Tatsachen hervor: Pick⁷⁾ stellte fest, daß die

¹⁾ Fr. N. Schulz, Die Bindungsweise des Schwefels in Eiweiß. Diese Zeitschrift, Bd. 25, S. 16, 1898.

²⁾ O. Nasse, Studien über die Eiweißkörper. Pflügers Arch., Bd. 8, S. 381, 1874.

³⁾ A. Danilewsky, Diese Zeitschrift, Bd. 7, S. 427, 1883.

⁴⁾ A. Krüger, Pflügers Arch., Bd. 43, S. 244, 1888.

⁵⁾ F. Suter, Diese Zeitschrift, Bd. 20, S. 564, 1895.

⁶⁾ Malerba, Rend. della R. Accad. delle Scienze di Napoli, fasc. 3-5, 1894.

⁷⁾ E. P. Pick, Diese Zeitschrift, Bd. 28, S. 219, 1899.

aus cystinhaltigem Fibrin dargestellten Primäralbumosen, die frei von Cystin sind, Schwefelwasserstoff liefern.

In den hier wiedergegebenen Versuchen nahm ich mir vor, den Gesamtschwefel der glatten, der quergestreiften und der Herzmuskulatur, sowie den Gesamtschwefel und den bleischwärenden Schwefel der Myoproteine der Säugetiere zu studieren.

II. Methode.

a) Bestimmung des Gesamtschwefels.

Die bei 110° getrocknete und pulverisierte Substanz wurde in Gegenwart gleicher Mengen von Natrium- und Kaliumcarbonat mittels Natriumperoxyd verbrannt und zwar in einem mit Deckel versehenen Nickeltiegel (Form Pozzi-Escot). Unter diesen Umständen hat man nicht den schädlichen Einfluß der Gasflamme zu befürchten. Die Kombustion verlief in der von Neumann¹⁾ angegebenen Weise. Die nachfolgenden Behandlungen, speziell die Fällung mittels Chlorbaryum hielt ich für angezeigt, genau nach den Angaben von E. Hintz und H. Weber (vgl. Treadwell, Lehrbuch der quantitativen Analyse) auszuführen.

b) Bestimmung des bleischwärenden Schwefels.

0,5—0,9 g Myoprotein wurden mit 50 ccm 30%iger Natronlauge in Gegenwart einiger Tropfen stark konzentrierter Bleiacetatlösung hydrolysiert und 10 Stunden am Rückflußkühler gekocht und zwar nach F. N. Schulz in einer Leuchtgasatmosphäre. Die Flüssigkeit wurde hierauf stark mit Eisessig angesäuert und der braune Rückstand auf einem aschefreien Filter gesammelt. Derselbe wurde hinreichend mit heißem Wasser gewaschen und nachdem er samt Filter im Ofen getrocknet worden war, wurde er gemäß der Bestimmung des Totalschwefels verascht, indem das Blei durch Kohlensäure entfernt wurde.

III. Analysen der glatten, der quergestreiften und der Herzmuskulatur.

Über den Schwefelgehalt des quergestreiften Muskels existieren verschiedene Angaben. Ich beschränke mich hier,

¹⁾ A. Neumann u. J. Meinertz, Zur Schwefelbestimmung mittels Natriumperoxyd. Diese Zeitschrift, Bd. 43, S. 37 (1904—05).

die Arbeiten von H. Schulz¹⁾ über die menschlichen Muskeln, sowie die von J. Katz²⁾ über tierische Muskeln zu zitieren. Die von ihnen erhaltenen Zahlen lassen sich, da beide die gleiche Methode der Veraschung (Methode von Klason) benutzten, folgendermaßen zusammenfassen:

Schwefel in Prozent der Trockensubstanz.

	Mensch		Kuh	Ochse	Schwein
	Muskel	Herz			
H. Schulz	0,8608	0,7916	0,8642	0,9694	1,0477
J. Katz	—	—	—	0,9178	0,736

Die Angaben bezüglich der glatten Muskulatur der Säugetiere sind nicht zahlreich. Es sind ab und zu einige Daten zu finden, ohne daß man imstande ist, zu sagen, ob wirkliche Unterschiede zwischen den glatten und quergestreiften Muskeln existieren. So finden sich schon in der Arbeit von H. Schulz Zahlen für den menschlichen Magen. T. Saiki³⁾ studierte später die mineralischen Bestandteile der glatten Muskeln des Schweines (Magen, Blase), indem er die Klasonsche Veraschungsmethode zur Bestimmung des Schwefels anwandte. Die Werte dieses Autors könnten zu der Anschauung führen, daß der Schwefelgehalt des glatten Muskels bedeutend niedriger sei, als der des quergestreiften, eine Anschauung, die weder bei einer Vergleichung mit den H. Schulzschen Daten noch mit den von mir gleich mitzuteilenden Daten über den Säugetiermuskel ihre Bestätigung findet. H. Schulz gibt für den Schwefelgehalt des Menschenmagens die Zahl 0,8812 (Prozent der Trockensubstanz), die sich absolut nicht von der des quergestreiften Muskels unterscheidet. T. Saiki fand hingegen für den Schweinemagen die Zahl 0,444 und für die Blase des gleichen Tieres die Zahl 0,398. Er bestimmte hingegen nicht den Schwefel im quergestreiften Muskel des Schweines, über den Zahlen von H. Schulz (1,0477) und von J. Katz (0,736) existieren. Zuzufolge einer ganz neuer-

¹⁾ H. Schulz, Über den Schwefelgehalt menschlicher und tierischer Gewebe. Pflügers Arch., Bd. 54, S. 555 (1893).

²⁾ J. Katz, Pflügers Arch., Bd. 63.

³⁾ T. Saiki, A chemical study of non striated mammalian muscle Journ. Biol. Chem., Bd. 4, S. 483 (1908).

dings erschienenen Arbeit von Meigs und Ryan¹⁾ existiert kein Unterschied hinsichtlich des Schwefelgehalts zwischen glatter und quergestreifter Muskulatur.

Experimentelle Daten über die quergestreiften Muskeln des Ochsen.

Die Muskeln wurden im Schlachthause gesammelt und von Fett und Bindegewebe befreit:

Trockenrückstand in Prozenten des Muskels (110°) = 22,22 g
Wassergehalt » » » » (110°) = 77,88 »

I. Gesamtschwefel: 0,7833 g Trockensubstanz gaben 0,0542 g BaSO₄.

S auf Trockensubstanz berechnet = 0,9502 %

S » frischen Muskel » = 2,111 %.

II. Gesamtschwefel: 1,0286 g Trockensubstanz gaben 0,070 g BaSO₄.

S auf Trockensubstanz berechnet = 0,9345 %

S » frischen Muskel » = 2,076 %.

Herzmuskel des Ochsen.

Der Muskel wurde wie oben vorbereitet.

Trockenrückstand in Prozenten des Muskels (110°) = 19,26 g
Wassergehalt » » » » (110°) = 80,74 »

I. Gesamtschwefel: 1,0871 g Trockenpulver gaben 0,0760 g BaSO₄.

S auf Trockensubstanz berechnet = 0,960 %

S » frischen Muskel » = 1,848 %.

II. Gesamtwechsel: 0,8621 g Trockensubstanz gaben 0,0599 g BaSO₄.

S auf Trockensubstanz berechnet = 0,9764 %

S » frischen Muskel » = 1,880 %.

III. Gesamtschwefel: 1,0652 g Trockensubstanz gaben 0,0758 g BaSO₄.

S auf Trockensubstanz berechnet = 0,9799 %

S » frischen Muskel » = 1,886 %.

¹⁾ Edward B. Meigs and L. A. Ryan, The chemical analysis of the ash of smooth muscles, The Journal of Biological Chemistry, Vol. 4, p. 401, 1912.

Glatter Muskel (retractor penis) des Stieres.

Die Muskeln wurden von allen Fremtteilen befreit.

Trockenrückstand in Prozenten des Muskels (110°) = 19,14 g

Wassergehalt „ „ „ „ (110°) = 80,78 „

I. Gesamtschwefel: 0,7848 g Trockensubstanz gaben
0,0645 g BaSO₄.

S auf Trockensubstanz berechnet = 1,128%

S „ frischen Muskel „ = 2,158%.

II. Gesamtschwefel: 0,775 g Trockensubstanz gaben
0,0647 g BaSO₄.

S auf Trockensubstanz berechnet = 1,146%.

S auf frischen Muskel berechnet = 2,193%.

Glatter Muskel (Magen) des Ochsen.

I. Gesamtschwefel: 0,7933 g Trockensubstanz gaben
0,0713 g BaSO₄.

S auf Trockensubstanz berechnet = 1,234%.

II. Gesamtschwefel: 1,0298 g Trockensubstanz gaben
0,0972 g BaSO₄.

S auf Trockensubstanz berechnet = 1,296%.

Glatter Muskel (Uterus) der Kuh.

Der Muskel wurde von Fremtteilen befreit, ohne jedoch die Mucosa zu entfernen.

I. Gesamtschwefel: 1,047 g Trockensubstanz gaben 0,0749 g
BaSO₄.

S auf Trockensubstanz berechnet = 0,9821%.

II. Gesamtschwefel: 1,153 g Trockensubstanz gaben
0,0789 g BaSO₄.

S auf Trockensubstanz berechnet = 0,9397%.

IV. Analysen der Myoproteine.

Analysen des Schwefelgehaltes der Myoproteine gibt es sehr wenige. Nur einige Zahlen für den Gesamtschwefel der Myoproteine der quergestreiften Muskulatur von Kühne und

Chittenden,¹⁾ Chittenden und Cummis²⁾ und v. Fürth³⁾ sind zu erwähnen. An gleicher Stelle findet sich auch die prozentische Zusammensetzung der Myoproteine. Studien über den bleischwärenden Schwefel sind mir nicht zur Kenntnis gekommen. Ich halte es nicht für angezeigt, mich bei der Frage aufzuhalten, ob unter den Muskeleiweißkörpern mehrere Myoproteine oder nur ein einziges vorkommen. Nach den Angaben v. Fürths sollen zwei existieren: das Myosin und das Myogen, die er auf physiko-chemische Weise unterscheidet. Ebenso verzeichnet die Literatur eine Arbeit M. Soaves,⁴⁾ der jedoch auf rein chemischem Wege nachweist, daß man es mit zwei verschiedenen Substanzen zu tun habe. Wie dem auch sei, ich habe nach den Angaben von v. Fürth das sogenannte Myosin und Myogen aus glatten und aus quergestreiften Muskeln der Säugetiere präpariert und darin sowohl Gesamtschwefel als auch den bleischwärenden Schwefel bestimmt, und zwar nach den Angaben von Fr. N. Schulz. In der Reinigung ging ich so weit, daß ein ziemlich aschearmes Material resultierte.

Quergestreifte Muskulatur des Ochsen.

Der Muskelpreßsaft wurde aus frischen aus dem Schlachthaus bezogenen und in Eis aufbewahrten Muskeln mittels der Buchner-Presse bereitet. Er wurde zentrifugiert, um Anteile des Kieselgurs zu entfernen, der dazu diente, um den Muskelbrei herzustellen, und hierauf einige Tage dialysiert. Die dabei entstandene Fällung wurde gesammelt, mit Wasser gewaschen und das Trockenpulver mit Alkohol und Äther im Soxhlet entfettet.

¹⁾ Kühne u. Chittenden, Myosin und Myosinogen. Zeitschr. f. Biolog., Bd. 25. 1889.

²⁾ Chittenden u. Cummis, The nature and composition of the myosin of muscle tissue. Studies from the laboratory of physiol-chemistry, Jale University, III, 1889.

³⁾ O. v. Fürth, Über die Eiweißkörper des Muskelplasmas. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmak., Bd. 35—36, 1895—96.

⁴⁾ M. Soave, Sulle sostanze proteiche del Muscolo. Accad. R. delle Scienze di Torino, 1904—05.

I. Gesamtschwefel: 0,6868 g Trockensubstanz gaben 0,0762 g BaSO₄.

S auf Trockensubstanz berechnet (110°) = 1,52°/o.

II. Gesamtschwefel: 0,6668 g Trockensubstanz gaben 0,072 g BaSO₄.

S auf Trockensubstanz berechnet (110°) = 1,48°/o.

Bleischwäzender Schwefel: 0,9492 g Trockensubstanz gaben 0,0774 g BaSO₄.

S auf Trockensubstanz berechnet (110°) = 1,119°/o.

Quergestreifte Muskulatur des Hundes.

Das Tier wurde entblutet und mit einer physiologischen Kochsalzlösung durchspült. Aus den Hintermuskeln wurde ein Brei gemacht und mit einer 10°/oigen Chlorammoniumlösung extrahiert. Die durch Leinwand filtrierten Extrakte wurden dann mehrere Tage dialysiert. Die sich formende gelatinöse Masse wurde gesammelt, gut zerteilt und von neuem in den Dialysator gegeben. Nach Verlauf von über einem Monat wurde sie gesammelt, mit Wasser gewaschen und das Trockenpulver mit Alkohol und Äther entfettet.

Gesamtschwefel: 0,7130 g Trockensubstanz gaben 0,100 g BaSO₄.

S auf Trockensubstanz berechnet (110°) = 1,50°/o.

Bleischwäzender Schwefel: 1,1602 g Trockensubstanz gaben 0,0674 g BaSO₄.

S auf Trockensubstanz berechnet (110°) = 0,7741°/o.

Glatte Muskulatur (retractor penis) des Stieres.

Die vom Schlachthaus bezogenen und in Eis gehaltenen Muskeln wurden zu einem Brei zerrieben und daraus mit der Buchner-Presse der Preßsaft gewonnen. Nach der Zentrifugation wurde er einen Tag gegen laufendes und einen Tag gegen destilliertes Wasser dialysiert. Die entstandene Fällung wurde auf Leinwand gesammelt, mit Wasser gewaschen, ge-

trocknet und mit Alkohol und Äther entfettet (Myosin nach v. Fürth).

Die durch die Leinwand abgelaufene Flüssigkeit wurde mit einigen Tropfen verdünnter Essigsäure angesäuert und dann mit dem gleichen Volumen Alkohol gefällt. Der Niederschlag wurde gewaschen, getrocknet und mit Alkohol und Äther entfettet (Myogen nach v. Fürth).

Myosin.

Bleischwärender Schwefel: 0,8650 g Trockensubstanz gaben 0,0874 g BaSO₄.

S auf Trockensubstanz berechnet (110°) = 1,39°/o.

Myogen.

I. Gesamtschwefel: 0,750 g Trockensubstanz gaben 0,082 g BaSO₄.

S auf Trockensubstanz berechnet (110°) = 1,50°/o.

II. Gesamtschwefel: 0,8166 g Trockensubstanz gaben 0,0942 g BaSO₄.

S auf Trockensubstanz berechnet (110°) = 1,58°/o.

Bleischwärender Schwefel:

I. 0,1634 g Trockensubstanz gaben 0,0862 g BaSO₄.

S auf Trockensubstanz berechnet (110°) = 1,017°/o.

II. 1,029 g Trockensubstanz gaben 0,0888 g BaSO₄.

S auf Trockensubstanz berechnet (110°) = 1,14°/o.

Zugleich mit diesen Analysen schien es mir angezeigt, die prozentische Zusammensetzung des Myosins und Myogens des glatten Muskels (retractor penis) des Stieres zu bestimmen, da keine Angaben über die Myoproteine der glatten Säugetiermuskeln in der Literatur zu finden sind.

Myosin (retractor penis) des Stieres.

I. 0,1653 g Trockensubstanz (110°) gaben: 0,3072 g CO₂ und 0,1001 g H₂O.

Gefunden: C = 50,74%

H = 6,72%

N = 17,00% (nach Dumas).

II. 0,1316 g Trockensubstanz (110°) gaben: 0,2448 g CO₂ und 0,082 g H₂O.

Gefunden: C = 50,73%

H = 6,91%

N = 16,91% (nach Dumas).

Aschegehalt: 0,1064 g gaben 0,0024 g Asche d. h. 2,4%.

Bei Berechnung auf aschefreie Substanz ergibt sich hieraus als Mittelwert:

C = 51,98%

H = 6,97%

N = 17,36%

O + S = 23,69%.

Myogen (retractor penis) des Stieres.

I. 0,1384 g Trockensubstanz (110°) gaben 0,2517 CO₂ und 0,0804 g H₂O.

Gefunden: C = 51,06%

H = 6,45%

N = 16,80%.

II. 0,1302 g Trockensubstanz gaben 0,2450 g CO₂ und 0,081 g H₂O.

Gefunden: C = 50,90%

H = 6,91%.

Aschegehalt: 0,1768 g gaben 0,0012 g Asche, d. h. 0,67%.

Bei Berechnung auf aschefreie Substanz ergibt sich hieraus als Mittelwert:

C = 51,80%

H = 6,72%

N = 16,91%

O = 23,42%

S = 1,55%.

Tabelle I.
S in Prozenten der Trockensubstanz.

Gesamt-Schwefel	Quergestreifter Muskel des Ochsen	Herzmuskel des Ochsen	Glatter Muskel der Säugetiere		
			retractorpenis Stier	Magen (Ochse)	Uterus (Kuh)
I	0,9502	0,960	1,128	1,234	0,9821
II	0,9345	0,9764	1,186	1,296	0,9397
III	—	0,9799	—	—	—
Mittel . .	0,9423	0,9721	1,137	1,265	0,9609

Tabelle II.
S in Prozenten der Trockensubstanz.

Schwefel	Myoproteine			
	Quergestreifter Muskel		Glatter Muskel	
	Myosin (Ochse)	Myosin (Hund)	Myosin (retractor penis) Stier	Myogen (retractor penis) Stier
Gesamt-Schwefel	I. 1,52	1,50	—	1,50
	II. 1,48	—		1,58
Bleischwäz. Schwefel	I. 1,119	0,774	1,39	1,017
	II. —	—		1,14

Schlußfolgerungen:

1. Der Gesamtschwefelgehalt der von mir studierten glatten Säugetiermuskeln ist durchaus nicht niedriger als der der quergestreiften Muskeln, im Gegenteil sogar ein wenig höher. Die Herzmuskulatur zeigt keinen Unterschied von der quergestreiften Muskulatur.

2. Der Schwefelgehalt der verschiedenen von mir dargestellten Myoproteine ist ungefähr bei allen der gleiche.

Die Werte sind jedoch höher als die von anderen Autoren angegebenen, so geben v. Fürth für das Muskelmyogen die Zahl 1,03% (Mittel), Kühne und Chittenden für das Myosin des Ochsen 1,27%, während ich im Mittel 1,50% fand.

3. Der bleischwäzende Schwefel zeigt Schwankungen bei den verschiedenen Myoproteinen, ist jedoch allgemein sehr hoch.

In folgender Tabelle sind die von mir gefundenen Werte zusammen mit denen von F. N. Schulz für einige Eiweißkörper angegebenen Zahlen vereinigt:

Autor	Substanz	Gesamt- schwefel in % der Substanz	Blei- schwäzender Schwefel in % der Substanz	Blei- schwäzender Schwefel in % des Gesamt-S
F. N. Schulz	Serumalbumin	1,89	1,28	67,72
„	Ovalbumin	1,18	0,49	41,52
„	Globulin	1,38	0,60	43,48
A. Costantino	Myosin (Hund)	1,50	0,774	51,6
„	Myosin (Ochse)	1,50	1,119	76,6
„	Myosin (Stier)- retractor penis	—	1,36	—
„	Myogen (Stier)- retractor penis	1,54	1,078	66,03

Die Tabelle zeigt, daß auch die Myoproteine einen Anteil von bleischwäzendem Schwefel enthalten. Die dafür erhaltenen Zahlen scheinen darauf hinzudeuten, daß wie auch im Serumalbumin (von F. N. Schulz) nicht weniger als drei Schwefelatome in den Myoproteinen enthalten sind.

4. Unterschiede zwischen Myosin und Myogen scheinen in bezug auf den bleischwäzenden Schwefel vorhanden zu sein, doch erlauben die wenigen Daten, die durch den Materialmangel bedingt waren, zurzeit nicht, diese Vermutung absolut sicher zu stellen. In einer anderen Arbeit hoffe ich darauf zurückzukommen.

5. Die für das Myosin und Myogen des retractor penis des Stieres gefundenen elementaren Zusammensetzungen zeigen nichts Bemerkenswertes und stimmen zu den von anderen Autoren für die Myoproteine angegebenen Zahlen.