

Über lösliche Metallverbindungen geschwefelter Eiweißkörper mit besonderer Berücksichtigung des Kupfers.¹⁾

Von

Dr. Robert Uhl.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität in Wien.)
(Der Redaktion zugegangen am 30. März 1913.)

I. Theoretischer chemischer Teil.

Die Schwermetallsalze der anorganischen und organischen Säuren geben mit den meisten Eiweißarten einen Niederschlag, der bisweilen im Überschuß von Eiweiß oder Metallsalz löslich ist. Es sei hier u. a. an die Untersuchungen über die Kupferverbindungen des Albumins von E. Harnack²⁾ erinnert. Lösliche Schwermetallkombinationen mit Eiweiß konnte Paal³⁾ darstellen durch Verwendung der sogenannten Protalbinsäure und Lysalbinsäure. Das nach dieser Methode gewonnene Kupfersalz ist eine amorphe blaue Masse und bildet nach Ansicht des Entdeckers wie das anderer Schwermetalle kolloidale Lösungen des Hydroxyds bzw. Oxyds in protalbinsaurem oder lysalbinsaurem Alkali. Das von Neisser⁴⁾ empfohlene «Pro-targol» wird erhalten, indem man den aus Peptonlösung und Silbernitrat entstandenen Niederschlag mit «Protalbumose» digeriert, bis Lösung eintritt. Auch bei Verwendung von Pflanzenglobulinen kann man zu ähnlichen löslichen Verbindungen gelangen.⁵⁾ Nach neueren Untersuchungen von Wo. Pauli und

¹⁾ Zum D. R. P. angemeldet unter U. 4715 IV./12 p.

²⁾ Zeitschrift f. phys. Chem., Bd. 5, S. 198.

³⁾ Ber., Bd. 35, S. 2197, und D. R. P. Nr. 129031. Vgl. auch Glaube du Gers und W. Kopaczewski, Colloid-Zeitschr., Bd. 9, S. 239.

⁴⁾ Neisser, Dermatolog. Zentralbl., 1897, H. 1.

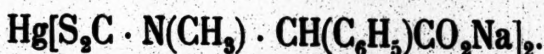
Barlow, Münchener med. Wochenschrift, 1897, Nr. 45.

⁵⁾ D. R. P. 118353.

L. Flecker¹⁾ spielen bei Metalleiweißlösungen die Elektrolyte eine wesentliche Rolle und in jüngster Zeit wurde von P. Pfeiffer und v. Modelski²⁾ interessanterweise gezeigt, daß Aminosäuren und Polypeptide mit Neutralsalzen, wie CaCl_2 , BaCl_2 , SrCl_2 , MgCl_2 , LiCl gut krystallisierbare, chemisch einheitliche Verbindungen, die nach stöcheometrisch einfachen Verhältnissen zusammengesetzt sind, liefern können.

Alle die angeführten Metalleiweißkombinationen haben deswegen nur geringes chemisches Interesse, weil für die Art der gegenseitigen Verankerung von Metall und Eiweiß jeder Anhaltspunkt fehlt. Im folgenden sollen neue lösliche Metallverbindungen geschwefelter Eiweißkörper besprochen werden, für welche bereits Analoga in ähnlich gebauten einfachen Verbindungen bestimmter Aminosäuren vorhanden sind.

Will man Metall in eine organische Verbindung einführen, so ist es erforderlich, daß diese das betreffende Metall so fest bindet, daß es in Lösung nicht dissoziiert und dann, daß sie eine Gruppe besitzt, welche die Löslichkeit bedingt. Ein Beispiel hierfür ist das Alkalisalz der Kupferthioglykolsäure,³⁾ in welcher Cu an S gebunden ist: $\text{Cu}_2(\text{SCH}_2\text{COONa})_2$. Ernest Fourneau und Vila⁴⁾ stellten Alkalisalze und Ester von Aryl- und Alkyldithiocarbaminoessigsäuren dar, die befähigt sind, Quecksilber an den Schwefel zu ketten, wie z. B.



Die löslichen Metallverbindungen aus «Eiweißxanthogenat»⁵⁾ waren bisher unbekannt; das letztere erhält man beim Behandeln von Eiweiß in alkalischer Lösung mit Schwefelkohlenstoff. An Stelle von Schwefelkohlenstoff kann man auch Kohlenoxysulfid verwenden, doch sind die dann erhaltenen Metallverbindungen schlechter löslich.

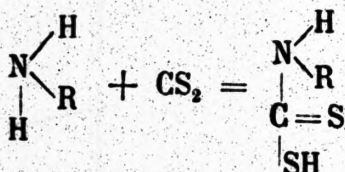
¹⁾ Biochem. Zeitschrift, Bd. 41, S. 461.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 81, S. 329; 1912.

³⁾ Ann., Bd. 187, S. 116, Claesson.

⁴⁾ Bull. Soc. Chim. de France (4), Bd. 9, S. 985 und 532; ferner D. R. P. Nr. 235 356.

⁵⁾ Wird unter diesem Namen nach dem D. R. P. Nr. 238 843 zu Kunstfäden und nach dem D. R. P. Nr. 192 344 zu Schwefelleim verarbeitet.



Das Eiweißxanthogenat kann durch Umfällen mit organischen Lösungsmitteln gereinigt werden, wobei es sich allerdings etwas zersetzt. Der Geruch des gelben Produktes erinnert an Senföle, der Geschmack ist pfefferartig. Witte-Pepton, das man auf diese Weise mit Schwefelkohlenstoff geschwefelt hat, liefert beim Ansäuern einer Lösung eine schwefelhaltige Ausflockung, die in Alkali löslich ist und wieder mit Säuren ausfällbar ist. Erepton (Höchst), Gelatine, sowie ein Aminosäuregemisch, das aus Casein durch Salzsäurehydrolyse erhalten wird, geben unter diesen Bedingungen nur eine geringe Ausflockung. ¹⁾)

Gibt man zu einer frischen Lösung von Schwefeleiweiß etwas wässrige Kupfersulfatlösung, so erhält man ein Gemenge von Kupferhydroxyd und einer braunen Eiweißfällung. Diese störende Eiweißfällung soll vermieden und das Metall nur an den eingeführten Schwefel des Eiweißmoleküls gebunden werden. Zu diesem Zweck kann man das Metall in fein verteilter Form oder als Oxyd bezw. Hydroxyd mit der Schwefeleiweißlösung längere Zeit schütteln und den Rückstand wieder abfiltrieren. Weitaus besser ist es jedoch, eine alkali-beständige Metallsalzlösung zu verwenden, wie z. B. Kupferoxydammoniak, Chlorsilber in Ammoniak, Jodkaliumquecksilberjodid usw.

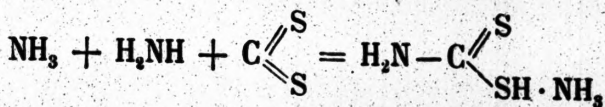
Auf diese Weise kann man, ohne eine Eiweißfällung befürchten zu müssen, auch mit einem Überschuß von Metall arbeiten. Letzteres, sowie die Hauptmenge der gebildeten Neutralsalze samt dem noch vorhandenen Alkali werden durch wiederholtes Umfällen der Eiweißmetallverbindung mit wässrigem Aceton bezw. Alkohol entfernt. Schließlich wird mit Alkohol und Äther bei Zimmertemperatur getrocknet.

Die amorphen Produkte haben einen auffallend hohen Metallgehalt; sie sind alle tief gefärbt und je nach der Eiweiß-

¹⁾ Vgl. über Dithiocarbaminoessigsäure, H. Körner, Ber. Bd. 41, 1901.

art in ganz verdünntem Alkali oder in reinem Wasser löslich. Die Peptonverbindung ist in Wasser spielend löslich. Aus den Lösungen werden die Substanzen weder von physiologischer Kochsalzlösung, noch von Eiweißlösungen ausgeflockt. Die gewöhnlichen Reagentien auf Metallionen versagen. Die Substanzen sind nahezu geschmacklos, nicht adstringierend, ganz schwach bitter und nachher süßlich. Die Kupferschwefelpeptonverbindung passiert nur zum kleinsten Teile selbst nach einer 8 tägigen Dialyse gegen destilliertes H_2O die Dialysiermembran. Sowohl die Kupfer- wie auch die Silberschwefeleiweißverbindungen werden bei der Verdauung von Pepsinsalzsäure und Trypsinsoda wohl angegriffen, erfahren jedoch innerhalb der Beobachtungsdauer von 6 Tagen keine weitgehende Aufspaltung.

Schwefelkohlenstoff verbindet sich zum Teil mit dem Ammoniak, der bei der Behandlung mit Alkali aus dem Eiweiß entweicht, zu Dithiocarbaminat, das man bei Anwendung eines Kühlers in diesem in Form von gelben Krystallen wahrnehmen kann. In analoger Weise reagiert er mit aliphatischen Amino-
gruppen.



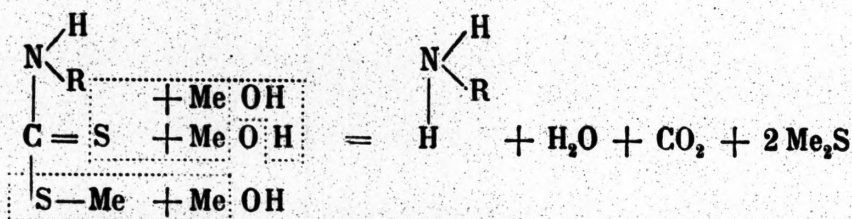
Während beim Zusammenbringen von Schwermetall in der angegebenen Form mit gewöhnlichem aus Schwefelkohlenstoff und Ammoniak entstandenen Dithiocarbaminat ein Niederschlag entsteht, erhält man eine klare braune Lösung, wenn man geschwefeltes «Pepton» verwendet. Diese Lösung kann dadurch bedingt sein, daß das Pepton noch Löslichkeitsgruppen besitzt und das Metall am eingeführten Schwefel gebunden ist oder aber daß die Lösung eine kolloidale ist. Wahrscheinlich wirken beide Momente zusammen. Immer ist Metallsalz der gewöhnlichen Dithiocarbaminsäure beigemischt und dieses kann ja nur durch ein Schutzkolloid in Lösung bleiben. In der Tat wird dies durch den Versuch bestätigt. Löst man das Ammoniumsalz der Dithiocarbaminsäure¹⁾ zusammen mit Witte-Pepton in Wasser auf und gibt eine ammoniakalische Kupfer-

¹⁾ Beilstein, Bd. 1, S. 1261.

acetatlösung hinzu, so erhält man eine für kurze Zeit beständige, bräunliche, kolloidale Lösung.

Beim Eintragen von ammoniakalischem Kupferoxyd in Lösungen von geschwefeltem Serum, Casein, Witte-Pepton, Erepton (Höchst), Gelatine erhält man eine braune Lösung. Dagegen verhält sich vollständig bis zu den Aminosäuren abgebautes Eiweiß ganz anders. Beim Eintragen von ammoniakalischem Kupferoxyd in die alkalische Lösung eines Gemenges von geschwefelten Aminosäuren, wie sie z. B. durch Salzsäurehydrolyse aus Casein erhalten werden, entsteht ein rein gelber Niederschlag. Oxydiert man ihn in Salzsäure suspendiert mit Wasserstoffsperoxyd bis zur Entfärbung, so löst er sich dann in schwachem Alkali völlig auf. Bei längerem Sieden erfolgt wieder Zersetzung unter Ausscheidung eines schwarzen Niederschlages. Fourneau und Vila¹⁾ haben darauf hingewiesen, daß bei Verwendung einer geschwefelten Alkylaminoessigsäure und Quecksilberoxyd ebenfalls Oxydationsvorgänge bei der Lösung der Substanz in Alkali eine wesentliche Rolle spielen.

Hat sich ein Schwermetallatom an Stelle des Alkalimetalles mit einem Atom Schwefel im Schwefeleiweiß verbunden, so erfolgt möglicherweise sofort teilweise ein Zerfall des großen Moleküls unter Bildung von Senfölen und Rhodaniden. Oder es entsteht Metallsulfid in molekularer Form dadurch, daß der gesamte in das Eiweiß eingeführte Schwefel sich an Metall anlagert. Für ein einwertiges Metall dürfte folgendes Schema gelten:



Das Verhältnis von Metall zu Schwefel ist, wie aus den Analysenzahlen hervorgeht, annähernd das der Äquivalentgewichte. Hieraus folgt, daß für eine einheitliche Schwefelmetalleiweißverbindung zu viel Metall vorhanden ist. Es dürfte

¹⁾ l. c.

nur die Hälfte gefunden werden, wenn keine Spaltung einträte. Über das System einer kolloidalen Lösung von Metallsulfid in Albumin haben Wo. Pauli und L. Flecker¹⁾ eingehende Untersuchungen angestellt; sie haben ein Schema aufgestellt, nach welchem sich Metallsulfid derart an das Albumin teilweise anlagert, daß z. B. Cu in die Carboxylgruppe geht und S sich an eine Aminogruppe hängt. Diese Annahme ist aber mit der bekannten Tatsache, daß die meisten Metallsulfide kaum dissoziiert sind, nicht gut in Einklang zu bringen. Vielleicht kommt man der Wirklichkeit am nächsten, wenn man annimmt, daß bei den in Rede stehenden Metallschwefeleiweißkombinationen ein Gleichgewicht besteht zwischen einer wahren, wie oben beschriebenen Schwefelmetalleiweißlösung, einer Anlagerung von Metallsulfid an Albumin und freiem molekularem, kolloidal gelösten Metallsulfid. Die Konstitution der Substanzen einwandfrei zu bestimmen, wird wohl nicht eher gelingen, als bis mehr Licht auf die sterische Konfiguration des Eiweißmoleküls geworfen ist.

II. Experimenteller chemischer Teil.

a) Darstellung von geschwefeltem Eiweiß.

Man löst Witte-Pepton (10 g) in 5%iger Natronlauge (50 ccm) auf und setzt nach dem Filtrieren Schwefelkohlenstoff (5 ccm) zu. Die Mischung läßt man in einer verschlossenen Flasche einige Tage unter häufigem Umschütteln stehen. Arbeitet man mit größeren Mengen, so ist es zweckmäßig, wegen der reichlichen Gasbildung einen Rückflußkühler anzuwenden und bis zum Sieden des Schwefelkohlenstoffes zu erhitzen. Dann ist die Reaktion schon nach wenigen Stunden vollendet. Dies wird daran erkannt, daß selbst bei längster Einwirkung von Schwefelkohlenstoff in der später beschriebenen Kupferverbindung nicht mehr als 20—21% Cu gefunden werden. Bei kürzerer Reaktionsdauer findet man entsprechend weniger. Zum Zweck der Reinigung wird zunächst der überschüssige Schwefelkohlenstoff durch Erwärmen auf dem Wasserbad ver-

¹⁾ l. c.

jagt und dann nach dem Erkalten das Produkt mit einem Gemisch aus gleichen Volumina Alkohol und Aceton (0,5 l) ausgefällt. Den zähen gelben Leim knetet man mehrmals in dem Gemisch durch und streicht ihn dann auf eine glacierte Platte, wo er bei Zimmertemperatur getrocknet wird. Die spröde Masse ist in Wasser mit schwach alkalischer Reaktion löslich. Die Lösung zersetzt sich aber nach längerem Stehen unter Ausscheidung von krystallisiertem Schwefel. Wie bereits erwähnt, wird schon durch das Ausfällen das Schwefeleiweiß verändert, weswegen zur Weiterverarbeitung immer die ursprüngliche Lösung verwendet wurde. Die Darstellungsweise ist für die verschiedenen Eiweißarten die gleiche. Die Mengenverhältnisse werden bei den entsprechenden Kupferverbindungen angeführt.

b) Einwirkung von Kupfersalzen auf geschwefeltes
«Pepton».

Zu der kalten, stark alkalischen Lösung von Witte-Pepton (10 g), das in der oben angeführten Weise mit Schwefelkohlenstoff behandelt ist, gießt man langsam eine konzentrierte ammoniakalische Lösung von Kupferacetat (8 g), wobei man eine klare, braune Lösung erhält. Das Produkt kann schon nach einigen Minuten ausgefällt werden und zwar am besten mit Aceton (gleiches Volumen). Man wäscht mehrmals mit 70%igem Aceton, schließlich mit reinem Aceton und mit Äther. Bei Zimmertemperatur wird das Produkt getrocknet und pulverisiert. Die Ausbeute (9 g) läßt sich zwar durch Verwendung von mehr Fällungsmittel steigern, doch wird die Substanz dann weniger rein erhalten. Sie muß sich in warmem Wasser (1 : 5) restlos mit neutraler Reaktion gegen Lackmus lösen. Ist dies nicht der Fall, so muß man sie in schwachem Alkali auflösen und nochmals fällen.

Analyse:

Die Substanz wurde für die Metallbestimmung verbrannt, die Asche geglüht, mit Wasser gewaschen und nochmals geglüht.

0,2114 g Substanz ergaben 0,0548 g CuO = 20,71% Cu.

0,2276 „ „ „ 0,0583 „ CuO = 20,47% Cu.

Die Schwefelbestimmung wurde nach Carius durchgeführt.

0,1901 g Substanz ergaben 0,1563 g BaSO₄ = 11,95% S.

Witte(Fibrin)-Pepton hat nach Kühne und Chittenden¹⁾ ca. 1,10% S.

c) Einwirkung von Kupfersalzen auf geschwefeltes Casein.

Casein (5 g) wird in der gleichen Weise wie Witte-Pepton in 5%iger Natronlauge (100 ccm) mit Schwefelkohlenstoff (2 ccm) behandelt. Die von überschüssigem Schwefelkohlenstoff durch Erwärmen befreite, abgekühlte, goldgelbe Lösung wird mit einer ammoniakalischen Lösung von Kupferacetat (4 g) versetzt, wobei man eine braune Lösung erhält, aus der die Substanz mit Aceton gefällt wird. Die amorphe, braune Masse ist nach dem Trocknen und Pulverisieren in ganz schwachem Alkali leicht löslich.

Analyse:

0,2904 g Substanz ergaben 0,0651 g CuO = 17,91% Cu.

d) Einwirkung von Kupfersalzen auf geschwefeltes Pferdeserum.

Pferdeserum (130 ccm) wird auf dem Wasserbade mit pulverisiertem Natronhydroxyd (2,5 g) vorsichtig vermischt, bis vollkommene Lösung eintritt. Hierauf gibt man Schwefelkohlenstoff (5 ccm) zu und verfährt, wie bei Witte-Pepton angegeben. Die Kupferverbindung ist in Alkali löslich.

Analyse:

0,3514 g Substanz ergaben 0,0559 g CuO = 12,71% Cu.

e) Einwirkung von Silbersalzen auf geschwefeltes «Pepton».

Aus Silbernitrat (8 g) wird mittels Kochsalz Chlorsilber gefällt und dieses nach wiederholtem Waschen in konzen-

¹⁾ Zeitschr. f. Biologie, 1884, Bd. 20, S. 11.

triertem Ammoniak gelöst (100 ccm). Diese Lösung gießt man langsam zu einer Auflösung von «Pepton» (10 g), das in der angegebenen Weise mit Schwefelkohlenstoff behandelt ist. Aus der schwarzbraunen Lösung wird das Produkt mit Aceton gefällt, das nach dem Trocknen und Pulverisieren in destilliertem Wasser sehr leicht löslich ist. Ganz auffallend ist der hohe Silbergehalt (41%). Die Ausbeute (11 g) ist etwas besser, als bei der entsprechenden Kupferverbindung.

Analyse:

Bei der Silberbestimmung wurde nach Neumann verascht:
 0,3036 g Substanz ergaben 0,1669 g AgCl = 41,37% Ag.
 0,4372 » » » 0,2390 » AgCl = 41,11% Ag.
 0,2309 » » » 0,0992 » BaSO₄ = 5,90% S.

f) Einwirkung von Quecksilbersalzen auf geschwefeltes «Pepton».

Witte-Pepton (10 g) wurde in der angegebenen Weise geschwefelt und zu der alkalischen Lösung Jodkaliumquecksilberjodid (12 g) in Wasser (12 ccm) gelöst zugegeben. Auf dem Wasserbad wird die braune Lösung bald tief schwarz. Nach etwa einer 1/2 Stunde ist die Reaktion beendet. Nach dem Abkühlen wird die Substanz in der angegebenen Weise gefällt. Sie ist nach dem Trocknen und Pulverisieren in destilliertem Wasser mit neutraler Reaktion leicht löslich. Die Ausbeute (6 g) ist nicht sehr groß.

Analyse:

Die Hg-Bestimmung wurde nach Carius und Volhard durchgeführt:

0,2436 g Substanz ergaben 0,1070 g HgS = 37,85% Hg.
 0,2409 » » » 0,1080 » HgS = 38,63% Hg.
 0,3164 » » » 0,1502 » BaSO₄ = 6,52% S.

III. Biologischer Teil.

Nach der angegebenen Methode gelingt es, ein Schwermetall in eine Form zu bringen, die in chemischer und physikalischer Beziehung den meisten Anforderungen für eine bio-

logische Untersuchung entspricht. Die Art der Einwirkung von Kupfer auf den tierischen Organismus und die chronische Kupfervergiftung ist nicht völlig aufgeklärt.¹⁾ Andererseits weiß man seit Nägeli und Israel,²⁾ daß geringe Spuren von Kupfer genügen, um die Lebenstätigkeit gewisser niederer Pflanzen, wie z. B. der Algen, zu beeinträchtigen. Daß Kupfersulfat in großen Mengen dazu verwendet wird, die Schädlinge der Weinrebe zu vertilgen, ist allgemein bekannt. H. W. Clark und S. D. Gage³⁾ haben darauf hingewiesen, daß dem metallischen Kupfer eine bedeutendere antiseptische Wirkung zukommt, als vielen anderen Schwermetallen. In letzterer Zeit bestätigte dies L. Bitter⁴⁾ in seinen Versuchen über das Absterben von Bakterien auf Metallen.

So lag der Gedanke nahe, die beschriebene aus Schwefelpepton erhaltene Kupferverbindung einem Studium nach 2 Richtungen hin zu unterziehen, und zwar in bezug auf ihre Giftigkeit für den tierischen Organismus und auf ihre baktericide Kraft.

a) Verhalten des Schwefelpeptons im Tierkörper.

Das von Schwefelalkali freie Schwefelpepton ist relativ ungiftig, sowohl bei subcutaner als intravenöser Injektion.

1. Maus, 23 g schwer, bekommt eine subcutane Injektion von 1 ccm einer 1%igen Lösung, nach 5 Tagen wieder eine subcutane Injektion von 1 ccm einer 5%igen Lösung. Nach 10 weiteren Tagen ist sie noch am Leben ohne sichtliche Krankheitserscheinung.

2. Kaninchen, 1600 g schwer, bekommt im Laufe von 12 Tagen in Form einer 5%igen Lösung im ganzen 2,8 g Substanz subcutan injiziert. Das Tier ist ganz normal und zeigt keine abnormen Temperaturschwankungen. In den folgenden 6 Tagen verhält es sich ebenfalls wie ein nicht behandeltes Tier.

¹⁾ Baum und Seeliger, Zeitschr. f. öff. Chem., 1898, S. 181.

²⁾ Nägeli, Über die oligodyn. Erscheinungen an lebenden Zellen. Neue Denkschrift d. allg. Schweizer Ges. f. d. ges. Naturwiss., Bd. 33. — Israel, Biolog. Stud. m. Rücksicht auf d. Patholog., I, II, III, Virchows Archiv, Bd. 141, S. 147.

³⁾ Journ. of inf. Dis., 1907, Suppl. Nr. 2, S. 175.

⁴⁾ Zeitschrift f. Hyg. u. Infekt.-Krankh., Bd. 69, S. 483—512, Kieler Hyg. Inst. d. Univ. — Vgl. auch: Green, daselbst Bd. 18, S. 495, Kupfer als Desinfektionsmittel.

3. Meerschweinchen, 250 g schwer, bekommt eine intravenöse Injektion von 3 ccm einer 5%igen Lösung von Schwefelpepton. Eine akute Wirkung ist nicht zu beobachten.

b) Verhalten der Kupferschwefelpepton-Verbindung im Tierkörper.

Kupfer ist in der beschriebenen Form bei subcutaner Injektion für Mäuse nicht so giftig, als in einer anderen Verbindung. Ganz auffallend aber ist die relative Harmlosigkeit der Substanz selbst bei intravenöser Injektion für Kaninchen. Verfüttert ist sie ebenfalls ungiftig und zeigt auch keine lokale Reizwirkung auf Schleimhäuten.

Weinsaures Kupferoxydnatron wirkt nach E. Harnack¹⁾ lähmend auf die quergestreifte Muskulatur. 10 mg Cu in dieser Form gilt bei intravenöser Injektion als tödlich für Kaninchen. In Form der Schwefeleiweißverbindung braucht man hierzu 10 mal so viel Kupfer. Roger²⁾ gibt an, daß eine mit Soda versetzte, wässrige Lösung von Kupferalbuminat, welche Eiweiß nicht koaguliert, bei der Einführung in die Blutbahn sehr giftig ist. Die letale Dosis pro Kilogramm Tier beträgt 11,7 mg Cu. Sie ist in Übereinstimmung mit Harnack vom Magen aus ungiftig.

Leo Schwarz³⁾ hat eine Kupferalbuminsäure beschrieben und dargetan, daß in ihr das Kupfer qualitativ ähnlich wie im weinsauren Kupferoxydnatron wirkt, die toxischen Erscheinungen aber zeitlich später eintreten.

1. Maus, 25 g schwer, bekommt eine subcutane Injektion von 1 ccm einer 1%igen Lösung von Kupfer-Schwefelpepton = 2 mg Cu. Nach 24 Stunden ist sie tot.

2. Maus, 21 g schwer, bekommt eine subc. Injektion von 0,5 ccm einer 1%igen Lösung = 1 mg Cu. Nach 24 Stunden ist sie tot.

3. Maus, 22 g schwer, bekommt eine subc. Injektion von 0,2 ccm einer 1%igen Lösung = 0,4 mg Cu. Sie lebt noch nach 14 Tagen.

4. Maus, 19 g schwer, bekommt eine subc. Injektion von 0,2 ccm einer 1%igen Lösung = 0,3 mg Cu. Am folgenden Tag wieder 0,3 mg Cu. Sie lebt noch nach 10 Tagen.

¹⁾ Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 3, S. 44.

²⁾ Roger, Über die giftigen Eigenschaften der Kupfersalze, Revue de méd., 1887, Nr. 11.

³⁾ Archiv f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 35, S. 437.

5. Maus, 13 g schwer, bekommt eine subc. Injektion von 0,1 ccm einer 1%igen Lösung = 0,15 mg Cu. Am folgenden Tag wieder 0,15 mg Cu. Sie lebt noch nach 10 Tagen.

6. Kaninchen, 1600 g schwer, bekommt im Laufe von 18 Tagen subc. Injektionen einer 5%igen Lösung, im ganzen die außergewöhnlich hohe Dosis von 0,675 g Cu. Das Tier zeigt bisweilen beschleunigte Atmung mit für Kaninchen nicht großen Temperaturschwankungen. Die niedrigste Temperatur ist 39,3°, die höchste 40,6°. Im Harn finden sich Spuren von Eiweiß. Doch hat es nach 18 Tagen um 200 g zugenommen. Über den Sektionsbefund usw. siehe im nächsten Abschnitt.

7. Kaninchen, weiß, Angora, 1500 g schwer, bekommt in die Ohrvene eine Injektion von 20 ccm einer 5%igen Lösung = 150 mg Cu. Nach etwa 2 Stunden sind die Conjunctivae, die Irides und die Chorioideae, die vorher pigmentfrei waren, braun gefärbt. Das Tier ist nach mehreren Stunden verendet. Der Sektionsbefund ergab in den Lungen und im Peritoneum Blutungen. Im Herzen und in den großen Venen war das Blut ungerinnbar geworden. Bemerkenswert ist, daß hier die zehnfache Menge Kupfer gegeben worden ist, die sonst ein Kaninchen zu töten vermag.

8. Kaninchen, 1600 g schwer, bekommt an 5 aufeinander folgenden Tagen je 2 ccm einer 5%igen Lösung in die Ohrvene injiziert. Die Gesamtmenge Kupfer beträgt 75 mg. Das Tier verhält sich ganz normal und ist frei von abnormen Temperaturschwankungen. Im Harn kann Eiweiß nicht nachgewiesen werden. Nach 7 Wochen hat es um 100 g zugenommen. Nun werden ihm 13 mg Cu in Form des weinsauren Kupferoxydnatrons intravenös injiziert. Nach 2 Stunden ist es völlig gelähmt und geht dann bald im Koma zugrunde. Es besteht also ein bedeutender Unterschied in der Giftigkeit der beiden Kupferverbindungen.

9. Kaninchen, 1900 g schwer, bekommt an 4 aufeinander folgenden Tagen je eine Injektion von 5 ccm einer 5%igen Lösung in die Ohrvene. Die Gesamtmenge Kupfer beträgt 150 mg. Sie ist also derjenigen gleich, die, auf einmal gegeben, ein Tier zu töten vermag. Das Kaninchen verhält sich ganz normal und ist frei von abnormen Temperaturschwankungen. Eine Albuminurie kann nicht nachgewiesen werden. Nach 7 Wochen hat es um 100 g zugenommen. Nun bekommt es eine subcutane Injektion von 5 ccm Mandelöl, in dem 0,1 g Kupferacetessigester = 19,8 mg Kupfer gelöst sind; das Tier geht dann nach mehreren Stunden zugrunde. Auch hier zeigt sich wieder die relative Ungiftigkeit der Kupferschwefeleiweißverbindung.

10. Kaninchen, 1950 g schwer, wird im Laufe von 18 Tagen mit 0,675 g Cu in Form der beschriebenen Kupfereiweißverbindung mittels der Schlundsonde gefüttert. Die Temperatur ist immer normal. Nach Verlauf der 18 Tage hat es um 150 g zugenommen.

11. Meerschweinchen mittlerer Größe bekommt eine Injektion von 2 ccm einer 10%igen Lösung = 20 mg Cu in die Vena jugularis. Das Tier verfällt in tiefes Koma und geht nach einer Viertelstunde zugrunde.

12. Meerschweinchen mittlerer Größe bekommt eine Injektion von 0,5 ccm einer 5%igen Lösung = 3,7 mg Cu in die Vena jugularis. Das Tier verhält sich wie Nr. 11.

13., 14., 15. und 16. Meerschweinchen mittlerer Größe bekommen subc. Injektionen von 3, 2, 1, und 0,5 ccm einer 5%igen Lösung. Dies entspricht 22,5, 15, 7,5 und 3,7 mg Cu. Alle mit Ausnahme des vorletzten, welches intercurrent aus unbekannter Ursache eingegangen ist, leben noch nach 5 Tagen.

Mehrmals wurden einige Tropfen einer 10%igen Lösung der aus geschwefeltem Pepton erhaltenen Kupferverbindung in den Konjunktivalsack eines Kaninchenauges gebracht, wobei sich bei längerer Beobachtung zeigte, daß die Substanz nicht den geringsten Reiz auszuüben vermag.

c) Verteilung des Kupfers und Ausscheidung aus dem Organismus.¹⁾

Die Kupferschwefeleiweißverbindung wird vom subcutanen Gewebe aus leicht resorbiert. Das Metall verteilt sich in die meisten Organe. Im Gehirn und im Herzen konnte es nicht nachgewiesen werden. Dagegen wird das im Kreislauf sich befindende Metall von der Leber zurückgehalten. Nach Slowtzoff²⁾ ist die Bindung des Kupfers an die Substanz der Leber eine relativ lockere. Vom Magen-Darmkanal aus wird nur wenig resorbiert. Es wird aber, gleichgültig auf welche Art es verabreicht worden ist, in ziemlicher Menge durch die Galle mit den Faeces ausgeschieden. Nie fand es sich im Harne. Eine Albuminurie konnte nicht beobachtet werden.

1. Einem 1600 g schweren Kaninchen (vgl. Nr. 6 im vorigen Ab-

¹⁾ S. Yagi, Über die Verteilung des Kupfers im tierischen Organismus und den Kupfergehalt menschlicher Organe. Arch. intern. de Pharm. et de Therap., Bd. 20, S. 51.

J. Brandl, Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung, Aufnahme und Ausscheidung von Kupfer. Arbeiten aus d. Kais. Gesundheitsamt, Bd. 13, S. 104.

Arn. Koldewey, Über die physiol. Wirkung des Kupfers, Inaug.-Dissertation, 1896; Chem. Zentralbl., 1896, Bd. 2, S. 1041.

W. Filehne, Beiträge zur Lehre von der akuten und chron. Kupfervergiftung. Deutsche med. Wochenschr., 1896, Nr. 10, S. 145.

²⁾ Slowtzoff, Über die Bindung des Kupfers durch die Leber, Hofmeisters Beiträge, Bd. 2, S. 307.

schnitt) wurden 0,675 g Cu mittels subc. Injektionen beigebracht. Hierauf wurde es getötet und die Organe wurden auf ihren Kupfergehalt untersucht; es ergab sich:

Leber:	80 g frisch;	20 g trocken . . .	0,1379 g Cu
Milz:	2,5 » »	0,5 » » . . .	Spuren Cu
Nieren:	11,5 » »	2,5 » » . . .	geringe Spuren Cu
Gesamtblut:		11,7 » » . . .	kein Cu
Kot			täglich Spuren Cu
Harn			kein Cu.

2. Einem Kaninchen (1950 g schwer, vgl. Nr. 10 im vorigen Abschnitte) wurden innerhalb von 18 Tagen 0,675 g Cu per os beigebracht. Hierauf wurde es getötet und die Organe wurden auf ihren Kupfergehalt untersucht; es enthielt:

Leber:	85 g frisch;	23 g trocken . . .	Spuren Cu
Milz:	2 » »	0,4 » » . . .	kein Cu
Nieren:	12 » »	2,7 » » . . .	» »
Gesamtblut:		13 » » . . .	» »
Kot			täglich viel Cu
Harn			kein Cu.

3. Hund, ca. 8 kg schwer, erhält in Narkose intravenös 20 ccm einer 5%igen Lösung = 150 mg Cu. Er wurde nach ca. 3 Stunden getötet. Die Organe wurden auf Kupfer verarbeitet. Die Feuchtgewichte betragen: Herz 65 g, Nieren 40 g, Milz 17 g. Gehirn 64 g, Schilddrüse 2 g, Leber 160 g und Gallenflüssigkeit 7 ccm.

Diese Organe wurden getrocknet, im Muffelofen verbrannt, die Asche mit konzentrierter Schwefelsäure etwas abgeraucht und dann mit Ammoniak alkalisch gemacht. Nach dem Filtrieren wurden die Lösungen im Verhältnis der frischen Gewichte der Organe mit Wasser verdünnt. Hiervon wurden Proben in gleich dicke Reagenzgläser gefüllt und kolorimetrisch verglichen. Es zeigte sich, daß die Reihenfolge in der Tiefe der Blaufärbung und damit des relativen Kupfergehaltes folgende war: 1. Galle, 2. Leber, 3. Milz, 4. Nieren. Die Unterschiede waren deutlich, aber nicht besonders stark. Die Lösungen von Gehirn, Herz und Schilddrüse waren farblos und somit frei von Kupfer.

d) Wirkung der Kupfereiweißverbindung auf die Diurese und den Blutdruck.

Die aus Schwefelpepton erhaltene Kupferverbindung vermag eine bestehende Diurese zu hemmen. Im Blutdruck konnte keine charakteristische Wirkung festgestellt werden.

Kaninchen, 2000 g schwer, bekommt eine intravenöse Injektion von 5 ccm einer 10%igen Glaubersalzlösung. Nach Beginn der starken Diurese bekommt es eine Injektion von 2 ccm einer 5%igen Kupferpeptonlösung = 20 mg Cu. Die Diurese sistiert, wie auch in mehreren anderen derartigen Versuchen regelmäßig zu erweisen war.

e) Versuche zur Prüfung der baktericiden und trypanociden Wirkung der Kupferschwefelpeptonverbindung.

Die aus Schwefelpepton erhaltene Kupferverbindung wurde in ihrer Einwirkung auf Bakterien und Trypanosomen untersucht. Trypanosomen werden in keiner Weise geschädigt. In einer demnächst anderenorts¹⁾ erscheinenden Arbeit wird das Gleiche bei zwei lipoidlöslichen Kupferverbindungen gezeigt. Die Wirkung auf Bakterien dagegen ist wenigstens in vitro eine starke. Am auffallendsten ist dies bei *Staphylococcus aureus*, der durch die Kupfereiweißverbindung in Verdünnung des Metalls von 1 : 40000 noch deutlich im Wachstum gehemmt wird. Die entsprechende Silberverbindung ist bei weitem nicht so wirksam. Sogar dem Sublimat ist die Kupfereiweißverbindung in diesem Falle sehr überlegen; zum Vergleiche werden hier Versuche von Heinz²⁾ über wachstumshemmende Wirkung von Sublimat wiedergegeben. Die bei der Prüfung der desinfizierenden Kraft der Lösungen befolgte Technik war die übliche, indem 1 ccm einer Verdünnung der Metalleiweißverbindung mit 6 ccm Nährflüssigkeit (Agar, Gelatine) gemischt und diese Nährböden nach dem Erstarren mit der betreffenden Kultur geimpft wurden. Die Kulturen auf Agar wurden bei 37°, die auf Gelatine bei 23° gehalten.³⁾ Die Resultate gehen aus folgenden Protokollen hervor, in denen + Wachstum — kein Wachstum der betreffenden Mikroorganismen bedeutet.

¹⁾ Arch. intern. de Pharmakodyn. et de Thérap.

²⁾ Heinz, Handbuch d. exp. Path. u. Pharmakol.

³⁾ Für die freundliche Unterstützung bei Anstellung der baktericiden Versuche bin ich Herrn Dr. G. Hofer, Ass. am Institute f. allg. u. exper. Pathologie der Universität in Wien, zu besonderem Danke verpflichtet.

a) Versuche in vitro.

Kupferpepton in Agar.

Konzentration der Substanz	Konzentration von Kupfer	Staphylococcus pyog. aur.		
		nach 24 Std.	nach 48 Std.	nach 72 Std.
1 : 600	1 : 3990	—	—	—
1 : 3000	1 : 19950	—	—	—
1 : 6000	1 : 39900	—	+	+
1 : 30000	1 : 199500	—	+	+
Kontrolle		+	+	+

Kupferpepton in Gelatine.

Konzentration der Substanz	Konzentration von Kupfer	Staphylococcus pyog. aur.	
		nach 48 Std.	nach 96 Std.
1 : 600	1 : 3990	—	—
1 : 3000	1 : 19950	—	—
1 : 6000	1 : 39900	+	+
1 : 30000	1 : 199500	+	+

Sublimat in Bouillon.

Konzentration der Substanz	Konzentration von Quecksilber	Staphylococcus pyog. aur.		
		nach 24 Std.	nach 48 Std.	nach 72 Std.
1 : 1000	1 : 1330	—	—	—
1 : 1330	1 : 1780	—	—	—
1 : 2000	1 : 2670	—	—	—
1 : 4000	1 : 5230	+	+	+
1 : 10000	1 : 13330	+	+	+

Kupferpepton in Agar.

Konzentration der Substanz	Konzentration von Kupfer	Cholera asiatica nach 48 Stunden
1 : 600	1 : 3990	—
1 : 3000	1 : 19950	+
1 : 6000	1 : 39900	+
1 : 30000	1 : 199500	+

Kupferpepton in Agar.

Konzentration der Substanz	Konzentration von Kupfer	Pneumobacillus Friedländer nach 48 Stunden
1 : 600	1 : 3990	+
1 : 3000	1 : 19950	+
1 : 6000	1 : 39900	+
1 : 30000	1 : 199500	+

Kupferpepton in Agar.

Konzentration der Substanz	Konzentration von Kupfer	Typhus nach 24 Stunden
1 : 600	1 : 3990	+
1 : 3000	1 : 19950	+
1 : 6000	1 : 39900	+
1 : 30000	1 : 199500	+

Kupferpepton in Gelatine.

Konzentration der Substanz	Konzentration von Kupfer	Typhus	
		nach 48 Std.	nach 96 Std.
1 : 600	1 : 3990	—	—
1 : 3000	1 : 19950	—	—
1 : 6000	1 : 39900	+	+
1 : 30000	1 : 199500	+	+

Kupferpepton in Agar.

Konzentration der Substanz	Konzentration von Kupfer	Milzbrand	
		nach 24 Std.	nach 72 Std.
1 : 600	1 : 3990	—	+
1 : 3000	1 : 19950	—	+
1 : 6000	1 : 39900	—	+
1 : 30000	1 : 199500	+	+
Kontrolle		+	+

Silber-Schwefelpeptonverbindung.

Die Silberpeptonverbindung wurde in gleicher Weise wie die Kupferpeptonverbindung in ihrer Wirkung auf *Staphylococcus aureus*, Typhus und Milzbrand untersucht. Die Verdünnungen wurden so gewählt, daß sie auf Silber berechnet, der Kupferverbindung äquivalent waren. Hierbei zeigte sich, daß die genannten Bakterien in Agar bei 37° in ihrem Wachstum nicht gehemmt wurden.

β) Versuche mit Kupferschwefelpepton an infizierten Tieren.

Da sich das Kupferpepton gegen *Staphylococcus* so wirksam erwies, wurde der Versuch gemacht, ob auch in vivo diese Verbindung eine desinfizierende Kraft besitzt. Leider waren aber die zur Verfügung stehenden Bakterienkulturen nicht genügend tierpathogen. Gegen Milzbrand war die Verbindung in vivo nicht wirksam.

Milzbrand.

Kaninchen, 1600 g schwer. Es wurden Seidenfäden mit Milzbrandsporen sowohl diesem Tier, als auch einem Kontrolltier von 1500 g 12 Uhr mittags in die Bauchhöhle versenkt. Gleichzeitig bekam das eine Tier eine subcutane Injektion von 3 ccm einer 5%igen Kupferpeptonlösung = 22,5 mg Cu. Nach 6½ Stunden erhielt es abermals in die Ohrvene eine Injektion von 3 ccm derselben Lösung. Am 2. Tage um 11 Uhr bekam es eine intravenöse Injektion von 5 ccm = 37,5 mg Cu und am 3. Tag um 5½ Uhr eine subcutane mit der gleichen Menge. Dieses Tier war am 5. Tag morgens tot, während das Kontrolltier noch einen Tag länger lebte.

Infektion mit Nagana.

Drei Mäuse wurden mit Nagana infiziert, zwei davon bekamen gleichzeitig je eine subcutane Injektion von 0,2 ccm einer 1%igen Kupferschwefelpeptonlösung = 0,15 mg Cu. Nach Verlauf von 2 Tagen zeigen alle drei Mäuse Trypanosomen im Blut.

Zusammenfassung.

I. Chemischer Teil.

1. Es wird die Darstellung von Schwefeleiweißverbindungen aus verschiedenen Eiweißkörpern mittels Schwefelkohlen-

stoff in alkalischer Lösung beschrieben. Sie ist analog der Darstellung von Dithiocarbaminsäuren aus aliphatischen Aminen.

2. Die dargestellten Schwefeleiweißkörper werden mit in Alkali beständigen Schwermetallsalzen zu in Wasser löslichen Metallschwefeleiweißverbindungen umgesetzt derart, daß sich das Metall an den eingeführten Schwefel bindet.

3. Die dargestellten löslichen Kupfer-, Silber- und Quecksilbereiweißverbindungen haben einen bemerkenswert hohen Metallgehalt, sind gegen Alkali beständig, werden von Eiweißlösungen nicht ausgeflockt, von proteolytischen Fermenten *in vitro* nur schwer angegriffen und diffundieren durch eine tierische Membran nicht.

II. Biologischer Teil.

1. Das Schwefelpepton erweist sich bei subcutaner und intravenöser Injektion als relativ ungiftig.

2. Das Kupferschwefelpepton zeigt keine lokale Ätzwirkung und ist relativ ungiftig, sowohl *per os* als bei subcutaner und intravenöser Injektion. Die Tiere vertragen ohne irgend welche Schädigung ca. 5 mal größere Dosen Cu als in einer anderen Form.

3. In Form von Kupferschwefelpepton verteilt sich das Kupfer in den meisten Organen mit Ausnahme von Gehirn und Herz. Ein großer Teil wird aber von der Leber zurückgehalten und dann durch die Galle in den Darmkanal ausgeschieden.

4. Das Kupferschwefelpepton läßt bei intravenöser Injektion den Blutdruck nahezu unverändert und vermag eine bestehende Diurese zu hemmen.

5. Während das Kupferschwefelpepton gegen Milzbrand und Trypanosomen unwirksam ist, zeigt es sich gegenüber Staphylokokken von deutlich baktericider Wirkung.
