XVII.

Aus der chemischen Abteilung des pharmakologischen Instituts der
Universität Berlin.

Beziehungen der Phenole zur Schwefelsäureausscheidung.

Von Privatdozent Dr. L. Spiegel.

Die geistreiche und zum mindesten in ihrem heuristischen Werte äußerst erfolgreiche Seitenkettentheorie Ehrlichs macht bekanntlich die Voraussetzung, daß dem Körper zugeführte Giftstoffe, indem sie sonst anders funktionierende Seitenketten lebenswichtiger Zellsubstanzen binden und dadurch ihrer eigentlichen Funktion entziehen, einem biologischen Gesetze gemäß eine übermäßige Produktion eben dieser Seitenketten und in weiterer Folge deren Abstoßung in den Kreislauf herbeiführen. Ehrlich hat ein solches Verhalten körperfremder Substanzen nur hochmolekularen Verbindungen unbekannter Konstitution zuschreiben wollen.¹⁾ Man kann diese Einschränkung wohl kaum als einen wesentlichen Punkt der Theorie betrachten, eher als einen Schutz gegen den naheliegenden Einwand, daß für die vielfach studierten einfacheren Substanzen von wohlbekannter Konstitution ein derartiges Verhalten bislang nicht nachgewiesen wurde. Es muß daher immerhin als sehr erwünscht erscheinen, zu prüfen, ob ein solcher Nachweis nicht doch unter geeigneten Umständen zu führen sei. Gelänge dies, so wäre ja damit nicht nur eine Erweiterung, sondern vor allem ein wichtiger direkter Beweis für die Richtigkeit der Ehrlichschen Theorie gewonnen.

Für derartige Versuche schien mir die Wirkung der Phenole ein geeignetes Objekt. Diese führt bekanntlich zu einer Bildung von Phenolschwefelsäuren, die sich im Urin ausscheiden. Sie finden

1) P. Ehrlich, Die Wertbemessung des Diphtherieheilserums und deren theoretische Grundlagen. Klin. Jahrbuch Bd. 6.

sich darin auch unter normalen Verhältnissen, wie nach den einschlägigen Untersuchungen ¹⁾ angenommen werden darf, infolge der Wirkung von bei der Darmfäulnis gebildeten phenolartigen Substanzen. Die Schwefelsäure, mit der sie sich paaren, geht zweifellos aus der Oxydation von Eiweißkörpern hervor. Es ist nun aber durch die Versuche von Christiani ²⁾ und besonders von Tauber ³⁾ höchst wahrscheinlich geworden, daß diese Paarung nicht mit bereits fertig gebildeter Schwefelsäure erfolgt, sondern mit einer ihrer Vorstufen. Welches diese Vorstufe ist, hat sich nicht ermitteln lassen. Mit schwefliger Säure scheint allerdings nach Tauber eine Paarung einzutreten, doch erfolgt auch diese ziemlich schwer und unvollkommen. Es bleibt daher Raum für die Annahme, daß ein weit weniger abgebauter Teil der Eiweißmolekel, vielleicht eine ursprüngliche Seitenkette, schon der Paarung unterliegt.

Die Einwirkung von Phenolen und von aromatischen Substanzen, welche im Organismus in Phenole übergehen, ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen, aus denen im allgemeinen eine starke Zunahme der Ätherschwefelsäuren unter solcher Einwirkung hervorgeht. Wäre nun die Voraussetzung richtig, daß die Phenole sich an Seitenketten binden, so müßte gemäß der Ehrlichschen Theorie eine Neubildung solcher Seitenketten in vermehrtem Maße und weiterhin ihre Abstoßung eintreten, es müßte also bei genügend lange dauernder Zufuhr von Phenolen eine Vermehrung auch der Gesamtschwefelsäure im Urin sich feststellen lassen.

Eine solche Erscheinung ist bisher nicht beobachtet worden. Es ist auch nicht zu verkennen, daß derartigen Beobachtungen gerade bei dem vorliegenden Versuchsobjekt bedeutsame Schwierigkeiten im Wege stehen. Die tägliche Ausfuhr des menschlichen wie des tierischen Organismus an Gesamtschwefelsäure und namentlich auch das Verhältnis dieser zu der gepaarten Schwefelsäure ist sehr schwankend. Phenole werden, wie erwähnt, auch unter normalen Verhältnissen als Produkte der Darmfäulnis in wechselnden Mengen dem Organismus zugeführt. Versuche, diesen Faktor durch Unterdrückung der Darmfäulnis auszuschalten, haben nur zu mangelhaften und kurzdauernden Ergebnissen geführt. Vor allem aber brachte

1) Baumann, Pflügers Archiv Bd. 13, S. 69, 291. Baumann u. Herter, Zeitschrift physiol. Chemie Bd. 1, S. 244. Baumann, ebenda Bd. 10, S. 129. Morax, ebenda Bd. 10, S. 318.

2) Christiani, ebenda Bd. 2, S. 286.

3) Tauber, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 36, S. 197.

es die starke Giftigkeit der Phenole und der zu ihrer Bildung Anlaß gebenden aromatischen Substanzen, die früher für solche Versuche herangezogen wurden, mit sich, daß alle diese Versuche sich nur auf einen bis wenige Tage erstreckten, auf eine Zeit, die für Beobachtung der erwarteten Verschiebungen nicht ausreicht.

Daher bestimmte mich der Umstand, daß ich im Besitze einer so gut wie völlig ungiftigen, im Organismus Phenol abspaltenden Verbindung war, zu dem Entschlusse, eine Versuchsreihe von längerer Dauer anzustellen. Diese Substanz ist das von mir im Jahre 1900 hergestellte Euguform,¹⁾ seiner chemischen Natur nach ein teilweise acetyliertes Kondensationsprodukt des Guajakols mit Formaldehyd. Dieser Körper spaltet, innerlich gereicht, Guajakol ab, wie aus Versuchen von Maaß²⁾ hervorgeht. Seine geringe Giftigkeit erhellt bereits aus den Versuchen von Vanicki²⁾ und konnte auch durch die hier zu berichtenden Versuche durchaus bestätigt werden. Hier erhielt nämlich eine Hündin von ca. 11 kg Gewicht täglich 1 g der Substanz monatelang, ohne daß sich irgend welche Krankheitserscheinungen oder auffällige Befunde im Urin zeigten.

Die analytischen Untersuchungen, die Herr Dr. H. Kaufmann auszuführen die Güte hatte, erfolgten nach dem Verfahren von Salkowski.³⁾ Dieses beruht darauf, daß die Gesamtschwefelsäure des Harns in einem Teile nach vorangehender Behandlung mit Salzsäure in der Hitze bestimmt wird, während man aus einem anderen Teile zunächst die präformierte Schwefelsäure durch ein Gemisch von Baryumhydrat- und Baryumchloridlösung zur Ausscheidung bringt und in einem bestimmten Teile des Filtrats die gepaarten Schwefelsäuren durch Erhitzen mit Salzsäure spaltet, wobei nun deren Schwefelsäure als Baryumsulfat abgeschieden wird. Im Anfange wurden alle Bestimmungen doppelt ausgeführt, wobei sich die Zuverlässigkeit der Methode so deutlich ergab, daß späterhin auf diese Vorsichtsmaßregel verzichtet werden konnte.

Es wurde zunächst eine längere Vorperiode benutzt, um zu sehen, ob man bei gleichbleibender Ernährung zu irgend welchen brauchbaren Durchschnittswerten für Gesamtschwefelsäure sowohl wie für gepaarte Schwefelsäure gelangen könne. Es ergab sich dabei, im Einklang mit den vorliegenden Ergebnissen anderer Forscher, daß die Mengen der Tagesausscheidungen und auch das tägliche Verhältnis von gepaarter zu Gesamtschwefelsäure sehr großen Schwankungen unterliegen (vgl. Tab. I), daß aber bei Zusammenfassung von mehreren, mindestens vier

1) Dargestellt von der Chemischen Fabrik Güstrow.

2) Vanicki, Archiv f. klin. Chirurgie Bd. 74, Heft 2.

3) Salkowski, Virchows Arch. Bd. 79, S. 552.

Tagen sich Perioden von einiger Regelmäßigkeit ergeben, besonders bezüglich des Verhältnisses der beiden Schwefelsäurewerte. Es wurden daher in dem weiteren Verlauf der Versuche die Werte nicht mehr täglich, sondern aus dem Mischharn von solchen Perioden ermittelt. Bei der Durchsicht der Werte aus einer so angestellten Versuchreihe ergab sich, daß leider gerade am Schlusse der Vorperiode Unregelmäßigkeiten in diesem Verhältnis eingetreten waren, die geeignet schienen, alle Schlüsse über die später beobachteten Veränderungen illusorisch zu machen. Es wurde deshalb einige Zeit nach Abschluß der ersten Versuchsreihe eine zweite in derselben Weise angesetzt. In der zweiten haben Bickel und Pincussohn¹⁾ Versuche mit einem ähnlichen Produkt, dem Pneumin, einem Kondensationsprodukt aus Kreosot und Formaldehyd, angestellt. Auf das Ergebnis dieser Versuche komme ich später zurück. Es sei nur hier schon bemerkt, daß auch diese Versuche sich nur auf 1—2 Tagen erstrecken, also auch auf die vorliegende Frage nicht zu verwerten sind.

Die Ergebnisse meiner Versuche sind in den Tabellen II und III zusammengestellt. In den beiden Versuchsreihen, die durch diese Tabellen wiedergegeben werden, zeigt sich übereinstimmend, daß zwar zu Beginn der Euguformperiode eine geringe Tendenz zur Erhöhung der Werte von gepaarter Schwefelsäure besteht, daß

Tabelle I.

Tägliche Einzelwerte der ersten 12 Tage in Milligrammen.

Datum	Gesamt SO ₃	Gepaarte SO ₃	Verhältnis a : b
13. 9.	659,8	45,9	14,38 : 1
14. 9.	811,7	45,2	18 : 1
15. 9.	604,8	49,1	12,3 : 1
16. 9.	784,2	33,2	23,6 : 1
17. 9.	754,3	43,5	17,3 : 1
18. 9.	524,7	31,4	16,7 : 1
19. 9.	809,4	32,7	24,75 : 1
20. 9.	1159,6	71,8	16,16 : 1
21. 9.	536,1	36,9	14,5 : 1
22. 9.	954,0	35,9	26,6 : 1
23. 9.	707,8	42,0	19,2 : 1
24. 9.	1406,4	55,4	25,4 : 1

ihr aber bald eine viel deutlicher ausgesprochene Tendenz zur Verringerung dieser Werte folgt. Diese Erscheinung beruht offenbar darauf, daß die Menge des aus dem Guajakolprodukt übertretenden Phenols geringer ist, als die der vorher infolge der Darmfäulnis resorbierten Phenole, deren Bildung durch die desinfizierende Wirkung des Präparates unterdrückt wird.

1) Bickel u. Pincussohn, Berl. klin. Wochenschr. Bd. 43, S. 507.

Tabelle II.

Tägliche Durchschnittswerte der ersten Versuchsreihe in Grammen.

Datum 1905	a Gesamt SO ₃	b Gepaarte SO ₃	Verhältnis a : b
Vorperiode.			
13. 9. — 17. 9.	0,7229	0,0436	16,6
17. 9. — 22. 9.	0,7976	0,0417	19,1
22. 9. — 27. 9.	0,8971	0,0422	21,2
27. 9. — 2. 10.	0,9368	0,0393	23,8
2. 10. — 7. 10.	1,2768	0,0590	21,5
7. 10. — 12. 10.	1,2155	0,0545	22,3
12. 10. — 17. 10.	0,8114	0,0372	21,8
17. 10. — 22. 10.	0,6029	0,0256	23,5
22. 10. — 30. 10.	verloren		
30. 10. — 1. 11.	0,7512	0,0330	22,8
1. 11. — 6. 11.	0,6314	0,0336	18,8
6. 11. — 9. 11.	0,5288	0,0316	16,7
Eugufornperiode.			
9. 11. — 13. 11.	0,6602	0,0405	15,5
13. 11. — 16. 11.	0,5197	0,0305	17
16. 11. — 19. 11.	0,7933	0,0322	24,6
19. 11. — 23. 11.	0,5997	0,0388	15,5
23. 11. — 27. 11.	0,6710	0,0380	17,6
27. 11. — 1. 12.	0,6646	0,0278	24,0
1. 12. — 5. 12.	0,6986	0,030	23,3
5. 12. — 9. 12.	0,4815	0,0232	20,7
9. 12. — 14. 12.	0,4544	0,0227	20,0
14. 12. — 18. 12.	0,5302	0,0144	36,8
18. 12. — 22. 12.	0,5880	0,0228	25,8
22. 12. — 26. 12.	0,6515	0,0322	20,3
26. 12. — 2. 1.	0,7512	0,0268	28
1906			
2. 1. — 8. 1.	0,6883	0,0249	27,6
8. 1. — 17. 1.	0,4173	0,0145	28,8
Nachperiode.			
17. 1. — 23. 1.	0,5015	0,0231	21,5
23. 1. — 29. 1.	0,4666	0,0191	29,6
29. 1. — 7. 2.	0,7879	0,0283	27,8
7. 2. — 12. 2.	0,1337	0,0419	27,1

Wie verhält sich nun die Gesamtschwefelsäure? Da, wie gesagt die Menge der gepaarten Schwefelsäure nicht, wie bei Anstellung der Versuche erwartet wurde, ansteigt, sondern vielmehr absinkt, so mußte, wenn die Ansicht von der Geltung der Ehrlich'schen Theorie für den hier stattfindenden Vorgang berechtigt ist, auch die Menge der Gesamtschwefelsäure verringert werden, da ja die vorausgesetzten spezifischen Seitenketten in geringerem Maße in Anspruch genommen werden. In der Tat findet ein solches Absinken der Gesamtschwefelsäurewerte in beiden Versuchsreihen in sehr merklicher Weise statt. In der ersten Reihe sinkt der Wert

Tabelle III.

Tägliche Durchschnittswerte der zweiten Versuchsreihe in Grammen.

Datum 1906	a Gesamt-SO ₃	b Gepaarte SO ₃	Verhältnis a : b
Vorperiode			
9. 3.—12. 3.	0,9101	0,048125	18,91
12. 3.—16. 3.	1,126	0,05517	20,41
16. 3.—20. 3.	1,0066	0,04951	20,34
20. 3.—27. 3.	0,58	0,0276	21
27. 3.—31. 3.	0,7477	0,03746	19,96
31. 3.— 4. 4.	etwas Harn verloren 0,5814	0,0291	19,98
4. 4.—10. 4.	0,8235	0,04076	20,33
10. 4.—18. 4.	0,65675	0,03231	20,3
Euguformperiode			
18. 4.—24. 4.	0,6554	0,02796	23,44
24. 4.—28. 4.	0,7433	0,03311	22,45
28. 4.— 3. 5.	0,6754	0,03493	19,33
3. 5.— 7. 5.	1,036	0,04956	20,9
7. 5.—11. 5.	0,8383	0,05141	16,31
11. 5.—14. 5.	0,4545	0,0285	15,93
14. 5.—19. 5.	0,53028	0,03498	15,16
19. 5.—29. 5.	geringe Harnmenge 0,5364	0,01874	28,63
29. 5.— 2. 6.	sehr große Harnmenge 0,9455	0,06414	14,74
2. 6.— 8. 6.	0,794	0,02712	29,3
8. 6.—15. 6.	0,6487	0,021	30,9
15. 6.—21. 6.	0,5503	0,0233	23,6
21. 6.—28. 6.	0,43503	0,0299	14,55
28. 6.— 6. 7.	0,4107	0,02733	15,14
1906 Nachperiode			
6. 7.—13. 7.	1,12573	0,04493	25,2
13. 7.—20. 7.	0,89518	0,0305	29,3
20. 7.—27. 7.	0,97575	0,01832	53,1
27. 7.— 4. 8.	0,79443	0,02723	29,2
4. 8.—11. 8.	0,93972	0,03233	29,1

von durchschnittlich 0,854 g täglich in der Vorperiode auf 0,602 g in der Euguformperiode. In der 2. Reihe findet ein Absinken von dem täglichen Durchschnittswerte 0,771 g der Vorperiode auf 0,631 g in der Euguformperiode statt, sodaß das Verhältnis zwischen Gesamtschwefelsäure und gepaarter Schwefelsäure im Durchschnitte gleich bleibt oder nur wenig größer wird. Daß dieses Herabgehen der Werte für Gesamtschwefelsäure auf die fortgesetzte Euguformdarreichung zurückzuführen ist, läßt sich besonders deutlich aus der Tatsache ersehen, daß in beiden Versuchsreihen die Ausscheidung in der 2. Hälfte der Euguformperiode noch geringer ist, als in der ersten. Die täglichen Durchschnittswerte der Ausscheidung in den

Tabelle IV.

I. Serie	a Gesamt-SO ₃	b Gepaarte SO ₃	Verhältnis a : b
Vorperiode (untersuchter Harn von 49 (a) bzw. 48 (b) Tagen)			
Gesamtmenge	41,8350	1,9596	
Pro Tag	0,85378	0,040825	20,9
Euguformperiode (untersuchter Harn von 69 Tagen)			
Gesamtmenge	41,5374	1,8411	
Pro Tag	0,602	0,0267	22,5
Nachperiode (untersuchter Harn von 26 Tagen)			
Gesamtmenge	18,5685	0,7174	
Pro Tag	0,7142	0,0276	25,9
Innerhalb der Euguformperiode			
in der ersten Hälfte (35 Tage) pro Tag	0,609		
„ „ zweiten „ (34 „) „ „	0,5949		
II. Serie			
Vorperiode (untersuchter Harn von 40 Tagen)			
Gesamtmenge	30,83201	1,524105	
Pro Tag	0,7708	0,0381	20,2
Euguformperiode (untersuchter Harn von 79 Tagen)			
Gesamtmenge	49,87791	2,460705	
Pro Tag	0,63136	0,03115	20,27
Nachperiode (untersuchter Harn von 36 Tagen)			
Gesamtmenge	33,91010	1,097623	
Pro Tag	0,94195	0,03049	30,9
Innerhalb der Euguformperiode			
in der ersten Hälfte (41 Tage) pro Tag	0,6624		
„ „ zweiten „ (38 „) „ „	0,5979		

einzelnen Perioden der beiden Versuchsreihen sind in Tabelle IV zusammengestellt.

Nach dem Aussetzen der Euguformdarreichung, also in der Nachperiode, bleibt die Menge der gepaarten Schwefelsäure zunächst unverändert. Dagegen steigt die Menge der Gesamtschwefelsäure bald an, woraus sich eine merkliche Erhöhung des Verhältnisses dieser zu jener ergibt. Man könnte danach allerdings geneigt sein, den Rückgang der Schwefelsäureausscheidung in den Euguformperioden lediglich auf eine den Zerfall von Eiweiß verzögernde Wirkung des Guajakols, resp. Euguforms zurückzuführen. Besonders könnte hierzu das Verhalten in der Nachperiode der 2. Versuchsreihe bestimmen, weil hier die Ausscheidung an Gesamtschwefelsäure sogar erheblich über den Betrag in der Vorperiode sich vermehrt. Andererseits ist aber in der Nachperiode der 1. Versuchsreihe dies nicht der Fall; hier hat vielmehr die Verminderung der Aus-

scheidung bis zum Schluß der Nachperiode, etwa 20 Tage lang, angehalten.

Die Verhältnisse liegen offenbar zu kompliziert, um auf Grund der hier angeführten Versuche eine bündige Entscheidung in der einen oder in der anderen Richtung zu treffen. Immerhin lassen die Ergebnisse aber die Möglichkeit zu, daß hier eine Wechselwirkung zwischen dem in den Organismus aufgenommenen Phenol und besonderen Seitenketten der Zellen, im Sinne der Ehrlich'schen Theorie, stattfindet, und sie ermutigen somit zu einer weiteren Verfolgung dieses Problems mit derartig einfach konstituierten Substanzen.

Ich komme nun auf die schon kurz erwähnte Untersuchung von Bickel und Pincussohn zurück. Diese Forscher haben einen vollständigen Stoffwechselversuch mit abwechselndem Verabreichen und Aussetzen einer Kreosot-Formaldehydverbindung (Pneumin) angestellt, aber von nur 10-tägiger Dauer. Angaben über den Gehalt an Schwefelsäuren vor dem Beginn der Behandlung fehlen (es wird nur bemerkt, daß der zu den Versuchen dienende Hund vorher 5 Tage im Käfig gehalten war und sich ungefähr im Stickstoffgleichgewicht befand, und es ist daher nicht möglich, über die Einwirkung der in den ersten 3 Tagen gereichten Dosen von je 1 bzw. 2 Gramm Pneumin etwas auszusagen. Die Schlußfolgerung der Verfasser, daß durch solche Dosen die Mengen der Ätherschwefelsäuren ziemlich unbeeinflusst blieben, schwebt daher in der Luft; sie stützt sich nur auf den Vergleich mit nachfolgenden Tagen, in denen aber an sich und besonders auch auf Grund meiner Ergebnisse eine Nachwirkung sehr wohl angenommen werden kann. Am 6. Tage werden 3 Gramm, am 8. Tage 4 Gramm Pneumin gereicht. Jedesmal fanden die Verfasser dann am darauf folgenden Tage die Menge der Ätherschwefelsäuren auf weniger als die Hälfte herabgesetzt, während bereits am nächsten Tage der Wert wieder die Höhe des 4. und 5. Tages erreicht. Die Verfasser nehmen an, daß diese nach den Tagen mit größeren Pneumindosen beobachteten erheblichen Senkungen der Mengen gepaarter Schwefelsäuren auf die Wirkung des Präparates zurückzuführen seien. Diese Senkungen sind zwar absolut nicht größer als die von mir an einzelnen Tagen unter normalen Verhältnissen beobachteten: aber das regelmäßige Auftreten im Pneuminversuch nach größeren Mengen des Präparats, die auffallend gute Übereinstimmung der Werte an den zwischenliegenden Tagen und vor allem die von mir bei längerer Darreichung von Phenolverbindungen nachgewiesene Tendenz im gleichen Sinne

lassen diese Folgerung als zu Recht bestehend erscheinen. — Aus dem Verhalten der Sulfatschwefelsäure wollen Bickel und Pincusohn keine Schlüsse ziehen, da der hier nach stärkeren Dosen beobachtete Rückgang ihnen hierzu zu unerheblich erscheint. Man kann dieser Vorsicht nur beipflichten, wird aber doch im Zusammenhange mit meinen Ergebnissen auch diesem Befunde von B. und P. Interesse entgegenbringen.

Nachschrift bei der Korrektur. Durch Herrn Geheimrat Ehrlich wurde ich freundlichst auf die Untersuchungen von J. Effront ¹⁾ über die Gewöhnung von Hefe an Formaldehyd aufmerksam gemacht. Effront wies nach, daß durch die akklimatisierte Hefe die Zerstörung des Zellgiftes schneller als durch gewöhnliche erfolgt, und weist ausdrücklich auf die Seitenkettentheorie zur Erklärung dieses Phänomens hin. Die hier in Frage kommende Seitenkette begünstigt die Oxydation des Formaldehyds. Bei meinen Versuchen kann eine ähnlich wirkende Seitenkette in Frage kommen, da ja die verwendete Gnajakolverbindung zugleich ein Derivat des Formaldehyds ist. Aber die Erhöhung des Oxydationsvermögens kann für sich meine Ergebnisse nicht erklären, da eine solche nicht geeignet erscheint, die Menge der Gesamtschwefelsäure herabzusetzen. Wohl aber zeigen auch Effronts Versuche, daß in der Tat die Seitenkettentheorie auch gegenüber chemisch gut definierter Substanzen Geltung beanspruchen darf.

1) Mon. scientif. [4] 19, 19.