

- c) *H. P. Hinsworth, L. E. Glynn, Lancet 1944, I, 457; J. Pathol. Bact., 56, 297 [1944]; L. J. Witts, Brit. Med. J. 1947, I, 1, 45. L. E. Glynn, Nutrit. Abstr. Rev. 16, 751 [1947]. F. S. Robscheit-Robbins u. Mitarb., J. Exp. Medicine 77, 375 [1943].*
- d) *P. B. Croft, R. A. Peters, Nature [London] 155, 175 [1945]; J. Abelin, Helv. physiol. acta 3, 481 [1945]; A. Gaidos, Rev. d'Hématol. 1, 117 [1946]; B. Kaufman, Arch. Pediatr. 63, 382 [1946]. A. Aschkenazy u. Mitarb., C. R. hebdo. Séances Acad. Sci. 226, 1857 [1948]; L. M. Morrison, Rev. Gastroenterol. 14, 533 [1947].*
- e) *M. E. Maun, W. M. Cahill, R. M. Davis, Arch. Pathol. 39, 294 [1945]; P. Plum, Acta physiol. scand. 4, 272 [1942]; S. Gurin, A. M. DellaViva, J. biol. Chemistry 170, 545 [1947]; W. Schweitzer, J. Physiology 106, 167 [1947].*
- f) *A. A. Albanese u. Mitarb., Science [New York] 95, 585 [1942]; 97, 312 [1943]; W. F. Keller, ebenda 103, 137 [1946]. W. A. Krehl u. Mitarb., J. biol. Chemistry 162, 403 [1946]; F. Rosen u. Mitarb., ebenda 163, 343 [1946]; N. C. Turner, G. E. Crowell, Amer. J. Publ. Health 38, 525 [1948]; T. F. Anderson, J. Bacteriol. 55, 637, 651 [1948].*
- g) *L. E. Holt, Fed. Proc. 1, 116 [1942].*
- h) *G. Fontès, L. Thivolle, C. R. hebdo. Séances Acad. Sci. 192, 63, 1395 [1932]; D. A. Hall, Biochemic. J. 41, 299 [1947]; A. T. Fuller u. Mitarb., ebenda 41, 11 [1947].*
- i) *A. A. Albanese u. Mitarb., Proc. Soc. exp. Biol. Med. 48, 726 [1941]; 52, 209 [1943]; H. A. Harris, A. Neuberger, F. Sanger, Biochemic. J. 37, 508 [1943]; M. B. Houlahan, H. K. Mitchell, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 33, 223 [1947].*

teils durch eine unmittelbare, katalysatorähnliche Wirkung auf bestimmte Zellsysteme zustande (Valin, Arginin, Lysin), teils durch chemische Umwandlung in Wirk-Stoffe von Hormon- oder Vitamincharakter. So geht Phenylalanin über Tyrosin in die Hormone Adrenalin und Thyroxin und in den Sympathikusstoff Arterenol über, während Methionin einerseits die Methyl-Gruppen für die Synthese von Cholin (Acetylcholin), Kreatin, Adrenalin und anderen biologischen Methylierungsprodukten, andererseits den zweiwertigen Schwefel für die Bildung von Cyst(e)in und Glutathion liefert (s. o.). Tryptophan endlich geht im Stoffwechsel von Bakterien, Pilzen, Vögeln, Säugern und auch des Menschen – hier ohne Mitwirkung von Darmbakte-

rien¹⁵¹) → in das Vitamin Nicotinsäure über. Dieser noch nicht völlig geklärte Vorgang, in dessen Verlauf die 3-Oxyanthranilsäure^{151a}) und der für die Augenpigmentbildung verantwortliche Wirkstoff Kynurenin¹⁵²), aber nicht Kynurensäure als Zwischenstufen eingeschaltet sind, untersteht der Kontrolle des Pyridoxins (Vitamin B₆)¹⁵³). Zu diesen katalytischen Effekten gehört auch die Anregung der Hämoglobin-Bildung beim Hund durch Methionin¹⁵⁴) und die der Plasmaalbumin-Produktion durch Tryptophan¹⁵⁵). Hier kann keine Baustoff-Funktion vorliegen, da Hämoglobin (beim Hund) praktisch methionin-frei und Plasmaalbumin praktisch tryptophan-frei ist¹⁵⁶). Die spezifischen Effekte der Eiweißbausteine scheinen nur von den freien, nicht den peptidartig gebundenen Aminosäuren auszugehen; dies ist jedenfalls für das Methionin nachgewiesen¹⁵⁶).

Die Erforschung der Biochemie des Nahrungseiweißes ist noch in vollem Fluß. Aber schon ihre bisherigen Ergebnisse zeigen, daß dieses Grenzgebiet zwischen Biologie und Chemie einmal als Teil der Ernährungslehre größte praktische Bedeutung besitzt, darüber hinaus aber dem experimentell arbeitenden Biologen grundlegende Einsichten in das Verhalten der lebenden Substanz zu vermitteln vermag. Eingeg. am 20. Dezember 1948. [A 190]

¹⁵¹) W. A. Perlzweig u. Mitarb., J. biol. Chemistry 167, 511 [1947]; M. W. Ackermann, A. Taylor, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 67, 449 [1948]; H. Spector, J. biol. Chemistry 173, 659 [1948].

^{151a}) D. Bonner, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 34, 5 [1948]; H. K. Mitchell, J. F. Nyc, ebenda 34, 1 [1948].

¹⁵²) G. W. Beadle, H. K. Mitchell, J. F. Nyc, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 33, 155 [1947].

¹⁵³) B. S. Schweigert, P. B. Pearson, J. biol. Chemistry 168, 555 [1947].

¹⁵⁴) F. S. Robscheit-Robbins u. Mitarb., J. exp. Med. 77, 375 [1943].

¹⁵⁵) E. Brand u. Mitarb., J. clin. Invest. 23, 437 [1944]; J. Amer. Chem. Soc. 68, 724 [1946].

¹⁵⁶) I. L. Chaikoff u. Mitarb., J. biol. Chemistry 160, 489 [1945]; C. H. Best, Science [New York] 103, 207 [1946].

¹⁵⁷) E. L. Schäfer, Med. Klinik, 1948, 236.

Über ein hochtoxisches Kondensationsprodukt von Sulfamid und Formaldehyd

Von Dr. G. HECHT und Dr. H. HENECKA, Elberfeld

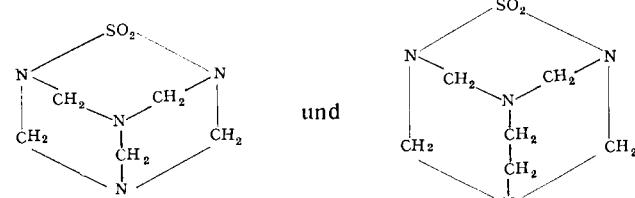
Aus dem Gewerbehygienischen Laboratorium und dem Pharmazeutisch-Wissenschaftlichen Laboratorium der Farbenfabriken Bayer, Wuppertal-Elberfeld

Ein Mol Sulfamid bildet in stark mineralsaurer Lösung mit zwei Molen Formaldehyd Tetramethylendisulfotetramin. Diese Verbindung ist ein sehr starkes Krampfgef.

Es ist bekannt, daß Sulfamid¹), $\text{NH}_2 \cdot \text{SO}_2 \cdot \text{NH}_2$, entsprechend wie Harnstoff, durch Umsetzen mit Formaldehyd zur Herstellung hochpolymerer Reaktionsprodukte benutzt werden kann, die als Kunststoffe bereits eine gewisse technische Bedeutung gewonnen haben. Daneben können auch niedermolekulare Verbindungen entstehen, worauf Paquin²) kürzlich hingewiesen hat.

Durch Vergiftungsfälle, die sich in der Praxis ereignet hatten, wurden wir darauf aufmerksam, daß bei diesen Reaktionen auch ein bisher nicht beschriebenes niedermolekulares Produkt von ungewöhnlich hoher Toxizität entstehen kann. Wir halten es für notwendig, diese Befunde hier bekannt zu geben um weiteren Zwischenfällen bei Arbeiten mit diesen Produkten vorzubeugen.

Sulfamid ist physiologisch recht harmlos, z. B. vertragen Mäuse intravenöse Gaben von 5 g/kg. Es war daher nicht vorauszusehen, daß die Umsetzung mit Formaldehyd zu giftigen Produkten führen könnte. Die von Paquin beschriebenen Verbindungen:



erwiesen sich in eigenen Versuchen als physiologisch recht harmlos. Auch in der Reihe der Reaktionsprodukte von Harnstoff und Formaldehyd sind toxische Verbindungen u. W. nicht bekannt geworden. Daher waren auch die Vergiftungen, die unsere Arbeiten veranlaßten, zunächst sehr schwer aufzuklären.

Während des Krieges wurde eine auswärtige Firma beauftragt, unentflammbares Fasermaterial anzufertigen. Dazu wurde

¹) Sulfamid ist nicht zu verwechseln mit Sulfonamiden oder deren Abkömmlingen.

²) Diese Ztschr. 60, 316 [1948].

einmalig auch eine Versuchsmenge mit Sulfamid und Formaldehyd imprägniert und deren Restbestände nach Jahren verarbeitet. Dabei erkrankten plötzlich einige Arbeiter unter schweren Vergiftungsscheinungen. Die anfänglichen Symptome wurden nur von Laien beobachtet, es wurde mitgeteilt, daß die Leute bei der Arbeit plötzlich umfielen und krampfartige Zustände bekamen, wobei ihnen, ähnlich epileptischen Krämpfen, Schaum vor dem Munde stand. Zwei Leute erkrankten erst zu Hause nach dem Verlassen des Arbeitsplatzes. Die vier schwerst Erkrankten wurden in ein Krankenhaus eingeliefert. Sie zeigten schwere Bewußtseinsstörungen und starke motorische Unruhe, die Patienten warfen sich hin und her, stöhnten, griffen mit den Händen in die Luft und knirschten mit den Zähnen. Diese Erscheinungen klangen langsam ab, bei einem Patienten gingen sie in einen ausgesprochenen psychischen Verwirrungszustand über, aber auch die anderen zeigten Gedächtnisstörungen. Im Verlaufe von 8 Tagen bis 3 Wochen erholten sich alle Patienten, Dauerschäden blieben nicht zurück. Die sonstigen körperlichen Untersuchungen der Kranken ergaben nichts bemerkenswertes.

Der Ursache dieser Vergiftung stand man zunächst ratlos gegenüber. Erst nachdem mancher andere Verdacht ausgeschaltet war, wurde die Aufmerksamkeit auf die verarbeiteten Materialien gelenkt und diese einem hygienischen Hochschul-institut übergeben. Dort wurden Mäuseversuche so eingeleitet, daß die Tiere nichts von den untersuchten Stoffen fressen konnten, da sie durch ein Gitter davon getrennt waren. Neben den mit Sulfamid und Formaldehyd behandelten Fasern wurden auch die sonstigen an der Arbeitsstätte benutzten Materialien untersucht. Es zeigte sich, daß die Mäuse teilweise in kurzer Zeit unter krampfartigen Erscheinungen eingingen, und das Institut kam zu dem Ergebnis, daß bei der Berührung der verschiedenen Materialien giftige Ausdünstungen entstanden.

Ein Hinweis auf die chemische Natur des wirksamen Giftstoffes war aus diesen Beobachtungen nicht zu entnehmen. So

wurde nun unser Laboratorium um die weitere Untersuchung gebeten, die uns zunächst zu den folgenden Feststellungen führte:

1. Wir konnten die Grundbeobachtung des Hygienischen Instituts bestätigen: Mäuse wurden in einen Drahtkäfig in ein großes Glasgefäß gesetzt und um sie herum die verschiedenen Materialien im Gemisch eingefüllt. Nach kurzer Zeit zeigten die Tiere Vergiftungsscheinungen und sie gingen im Verlauf von 2 h zugrunde. Der Verlauf der Symptome war folgender: Die Tiere zeigten zunächst Erregungszustände und eine sehr charakteristische Haltung des über den Körper nach vorn gekrümmten Schwanzes, vergleichbar der Morphinwirkung an der Maus. Es kam dann zu wiederholten schweren klonischen Krampfanfällen, die oft ganz plötzlich mit einem plötzlichen Sprung einsetzten. Der Tod erfolgte meist in einem finalen Krampfanfall in typischer Haltung mit gebeugtem Kopf und Streckung der hinteren Extremitäten. Es handelte sich also um ein sehr typisches zentralnervöses Vergiftungsbild, das von uncharakteristischen Giftwirkungen leicht zu unterscheiden ist.

2. Das auslösende Gift war aber entgegen der Annahme des Hygienischen Institutes nicht gasförmig. Durchleiten von Luft durch die gemischten Materialien machte diese selbst unter extremen Bedingungen (langsamster Luftstrom von 0,2 l/min. durch große Mengen des auf 50° erwärmten Materialgemisches, Versuchszeit 8 h) für Mäuse nicht toxisch. Die Vergiftung der von dem Material räumlich getrennten Tiere in dem 1. Versuch konnte also nur durch den Staub vermittelt worden sein, den das Material abgab und den die Tiere eingetaucht oder beim Putzen ihres Felles geleckt haben.

3. Das Gift war nur in bestimmten Proben der Fasern enthalten. Wurden die verschiedenen Materialien getrennt als Streu in Käfige gebracht und Mäuse hineingesetzt, so gingen sie bei einzelnen Faserproben bereits nach 10 min. unter den beschriebenen Symptomen zugrunde. In anderen Proben zeigten sie auch nach 24 h keine Vergiftungsscheinungen. Wir fanden keinen Hinweis dafür, daß der Kontakt der verschiedenen Materialien bei den Giftwirkungen eine Rolle spielte.

4. Das Gift ging in den wäßrigen Aufguß der toxischen Faser über, der an der Maus subkutan unter den beschriebenen Erscheinungen stark wirksam war und eine quantitative Giftbestimmung ermöglichte. Ein Aufguß von 1 Teil Faser mit 20 Teilen 0,9% NaCl-Lösung, einige Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, wirkte noch mit 0,02 cm³ pro 20 g Maus subkutan tödlich, mit 0,01 cm³ pro 20 g nicht mehr. Das heißt, 1 mg der giftigen Fasern gab die für eine Maus von 20 g tödliche Giftdosis an den Aufguß ab. Die Wirkungsstärke dieser Aufgußösung blieb übrigens bei Zimmertemperatur wochenlang stabil.

5. Von den verschiedenartigen Faserproben zeigten nur die mit Sulfamid-Formaldehyd behandelten die genannte Wirkung. Alle untersuchten Proben von Fasern, die ohne Sulfamid, aber im übrigen gleich, hergestellt waren, waren völlig giftfrei, nicht nur in diesem Aufgußversuch, sondern auch, wenn Mäuse tagelang sich in den als Streu in die Käfige gebrachten Fasern aufhielten.

Obwohl von den mit Sulfamid hergestellten Fasern bereits vor Jahren gewisse Mengen an Verbraucher abgegeben worden waren, war bisher von ihrer giftigen Eigenschaft nichts bekannt geworden. Vermutlich macht erst eine zur Staubentwicklung führende mechanische Beschädigung das Material zu einer wirklichen Gefahr. Es war daher notwendig, alle Reste des Materials zu erfassen und unschädlich zu machen. Weitere Vergiftungen sind nicht mehr bekannt geworden.

Den Zusammenhang des Giftes mit der Verwendung von Sulfamid und Formaldehyd konnten wir endgültig sicherstellen, als wir ein jetzt neu im Laborversuch damit behandeltes Fasermaterial untersuchten, das sich an der Maus in typischer Weise giftig zeigte, wenn auch in geringerem Maße.

Inzwischen aber waren wir in anderer Richtung an die Aufklärung herangegangen. Unsere Ergebnisse hatten den Versuch nahegelegt, das Gift aus dem wäßrigen Auszug der Fasern zu isolieren. Diese Bemühungen stießen lange auf unerwartete Schwierigkeiten. Die Auszüge hinterließen beim Eindampfen schmierig-harzige Rückstände, aus denen eine Fraktionierung und Anreicherung des Giftes nicht recht gelang. Indessen machten wir bei diesen Arbeiten folgende Feststellungen:

1. Das Gift ist stabil bei einstündigem Erwärmen der Auszüge auf 95°, selbst bei Zusatz von 1/10 Volum nHCl bzw. NaOH, dagegen zersetzt es sich offenbar bei längerem Kochen.

2. Die Wasserlöslichkeit ist begrenzt. Eine Lösung, die in 1 cm³ die tödliche Dosis für 1 kg Maus subkutan enthält, scheine gesättigt zu sein.

3. Das Gift ist unlöslich in Methyl- und Äthylalkohol.

4. Nach Behandeln der giftigen Fasern mit der fünfzehnfachen Menge kochendem Wasser scheidet sich aus der heißfiltrierten Lösung eine geringe Menge fester, Krystalle führender Substanz aus, die bei der Maus mit 1–2 mg/kg subkutan in typischer Weise tödlich wirkt. Jedoch enthielt diese Ausscheidung meist weniger als die Hälfte des Giftes, die Hauptmenge blieb in der Lösung, auf deren Aufarbeitung wir viel vergebliche Mühe verwendeten.

Schließlich erreichten wir die Isolierung des Giftes. Wir zogen das Material mit der 5-fachen Menge kochendem Wasser aus und beschränkten uns auf Aufarbeitung der aus der

heißfiltrierten Lösung in der Kälte abgeschiedenen Substanzmengen. Deren Menge war aus ungeklärten Gründen wechselnd; aus je 2 kg Fasern erhielten wir 15–30 g Trockensubstanz. Den Enderfolg verdankten wir dann der Auffindung des Acetons als Lösungsmittel des Giftes. Die Trockensubstanz wurde mit der 12-fachen Menge Aceton behandelt und von dem unlöslichen Anteil durch Schleudern befreit. In die Lösung wurden dann 7 Teile Wasser langsam eingerührt, wobei ein rein weißes krystallines Material abgeschieden wird. Es ergaben sich nach dem Trocknen jeweils fast genau 3 g, unabhängig von der Menge des Zwischenproduktes. Die Mutterlaugen schieden über Nacht im Kühlschrank nochmals jeweils fast 1 g des gleichen Produktes aus.

Dieses krystallisierte Giftpräparat war in Wasser sehr schwer löslich. Auch zum Lösen in siedendem Aceton braucht man mehr als die 30-fache Menge, beim Abkühlen krystallisiert ein großer Teil wieder aus.

Zur Prüfung der Toxizität wurde die Substanz in Aceton (mindestens der 100-fachen Menge) gelöst und mit Wasser weiter verdünnt. Solche Verdünnungen können aber schließlich wieder bei längerem Stehen zur Abscheidung der Substanzkrystalle führen, selbst noch bei 1:10000. Für die Mäuseversuche waren aber Lösungen 1:100000 bis 1:50000 ausreichend. Die tödliche Dosis bei der Maus beträgt subkutan 0,15–0,2 mg/kg, oral 0,2–0,25 mg/kg. Auch für Meerschweinchen, Kaninchen, Katzen und Hunde gelten Dosen von der gleichen Größenordnung. Die Wirksamkeit änderte sich durch Umkrystallisieren des Präparates nicht mehr.

Es handelt sich also um ein Gift von ungewöhnlicher Wirksamkeit, z. B. ist es etwa fünf-mal toxischer als Strychnin. Aus der Wirkungsstärke errechnet sich, daß das Ausgangsmaterial, die toxischen Fasern, 0,4% des Produktes enthielten, wovon wir also in dem beschriebenen Isolierungsverfahren etwa die Hälfte in reiner Form gewonnen hatten.

Die Elementaranalyse in unserem analytischen Laboratorium ergab:

C 21,65%	21,75%	N 23,23%
H 3,10%	3,20%	S 26,23%
O 25,46%	25,30%	26,60%

Diese Analyse steht am besten im Einklang mit der Annahme, daß das Produkt durch die Reaktion von 1 Mol Sulfamid mit 2 Mol Formaldehyd unter Wasseraustritt entstanden ist. Dabei würde eine Verbindung der Summenformel $C_2H_4O_2N_2S$ zu erwarten sein, für die sich errechnet:

$$C = 20,0\% \quad N = 23,3\% \\ H = 3,3\% \quad S = 26,6\% \\ O = 26,6\%$$

In unserem physikalischen Laboratorium durchgeführte Molekulargewichtsbestimmungen ergaben, daß der Verbindung die Formel $(C_2H_4O_2N_2S)_2$ zukommt; weiterhin zeigte der Vergleich der Debye-Scherrer-Röntgenogramme der Substanz und des Hexamethylentetramins, daß beide Substanzen isoster sind.

Sehr wahrscheinlich ist die Konstitution des Giftstoffes daher so zu deuten, daß die Substanz dimer und dem Hexamethylentetramin isoster aufzufassen ist als Tetramethylen-disulfotetramin. Die außerordentlich hohe Giftigkeit des Stoffes erscheint jedoch durchaus rätselhaft und bisher ohne Analogon.

Die Synthese des Giftstoffes schließlich gelang überraschend leicht durch Kondensation der Komponenten im stark mineralsauren Medium: versetzt man eine Lösung von Sulfamid in konz. Salzsäure oder 60proz. Schwefelsäure mit Formaldehyd, so scheidet sich die Verbindung in kurzer Zeit feinkristallin in sehr hoher Reinheit nahezu quantitativ aus. Nach Umkrystallisieren aus Aceton erhält man feine kubische Krystallchen, die bei 255 bis 260° zersetzen schmelzen und die mit der aus dem Fasermaterial isolierten Verbindung keine Schmelzpunktsdepression geben. Die Analyse des umkrystallisierten Produktes ergab:

$$(C_2H_4O_2N_2S)_2 \quad (240,3) \\ \text{Ber. C} = 20,00; \text{H} = 3,36; \text{N} = 23,32; \text{S} = 26,69. \\ \text{Gef. C} = 20,24; \text{H} = 3,55; \text{N} = 23,36; \text{S} = 26,77. \\ 20,35 \quad 3,52$$

Auch die Giftigkeit des synthetischen Tetramethylen-disulfotetramins ist die gleiche wie bei dem aus dem Fasermaterial isolierten Giftstoff.

Eingeg. am 24. Mai 1949.

[A 203]

