

Ueber die Bildung der Hippursäure im Organismus des Schafes.

Von W. v. Schröder.

(Der Redaktion zugegangen am 19. Juli.)

H. Weiske¹⁾ hatte in seiner Arbeit über die Bildung der Hippursäure die Beobachtung gemacht, dass bei einem aus Kartoffeln und Ackerbohnen bestehenden Futter der Versuchshammel Benzoësäure, die ihm eingeführt war, unverändert im Harn wieder ausschied. Wurde Benzoësäure und Glycocoll eingegeben, so erschien im Harn ebenfalls keine Hippursäure, ja eingeführte Hippursäure trat als Benzoësäure im Harn aus. Diese interessanten Beobachtungen schienen geeignet, Fragen nach dem Grund dieser auffallenden Erscheinung anzuregen. Man konnte vermuthen, bei näherer Untersuchung dieses Gegenstandes uns bis jetzt noch unbekanntes Bedingungen, die für das Zustandekommen der Synthese der Hippursäure erfüllt sein müssen, zu ermitteln.

Ich machte zuerst an mir selbst einen Versuch. Ich ass einen Tag lang nur Kartoffeln mit etwas Butter, und nahm unmittelbar nach Mittag ca. 0,5 gr. Benzoësäure in etwas Kalilauge gelöst ein. In dem stark alkalischen, trüben Harn konnte ich jedoch nach der Bunge-Schmiedeberg'schen Methode keine Spur Benzoësäure nachweisen. Salkowsky²⁾ gibt an, dass Kaninchen bei reiner Kartoffelnahrung Benzoësäure vollständig in Hippursäure umwandeln. Aus meinem Selbstversuch konnte schon allein der kurzen Dauer wegen nichts Entscheidendes geschlossen werden. Eine längere Ernährung nur von Kartoffeln und Butter wollte ich mir nicht zumuthen. Salkowsky's Beobachtung mochte auf ein verschiedenes Verhalten des Kaninchens und des

¹⁾ Zeitschr. f. Biol. XII., p. 241.

²⁾ Diese Zeitschr. Bd. I., p. 25.

Schafes in Bezug auf das Zustandekommen der Hippursäuresynthese hinweisen.

Es galt vor allem an derselben Thierspecies die Beobachtung Weiske's nochmals zu constatiren, um dann sicher weitere Fragen stellen zu können. Es lag für mich kein Grund vor, die Richtigkeit der Angaben dieses Forschers zu bezweifeln, doch wollte ich eine so wichtige Beobachtung durch Controlle nochmals prüfen.

Zu meinen Versuchen benutzte ich einen Southdown-Hammel nicht ganz reiner Race, der 38 kg wog. Das Thier wurde in einen nach Henneberg-Stohmann's Angaben construirten Zwangsstall gesperrt und sein Harn wie gewöhnlich mittelst des Harntrichters aus Gummi in einer Flasche aufgefangen. Um 9 Uhr Morgens wurde das Thier gefüttert und irgend erhebliche nicht verzehrte Futterreste zurückgewogen. Vom 24stündigem Harn wurden 3—400 cc zur Hippursäurebestimmung benutzt. Gewöhnlich verfuhr ich so, dass ich die genannte Harnquantität, nachdem ich mich von ihrer alkalischen Reaction überzeugt, auf dem Wasserbad auf 30—40 Cc. einengte, mit ca. 10—15 Cc. conc. Salzsäure versetzte und mindestens 48 Stunden am kühlen Ort stehen liess. Den Niederschlag filtrirte ich ab, behandelte ihn längere Zeit mit Essigäther zur Lösung der Hippursäure, filtrirte und verdunstete den Essigäther bei ca. 40°. Dann nahm ich den Rückstand mit warmen Wasser auf, entfärbte mit etwas Thierkohle, liess auf dem Uhrglas bei ca. 40° verdampfen und untersuchte nun mikroskopisch, ob Hippursäure vorhanden. Es ist diese Methode natürlich keine genaue, und man kann, falls sie ein negatives Resultat gibt, mit Sicherheit nur sagen, dass wenn der betreffende Harn Hippursäure enthält, ihre Menge eine nur sehr kleine sein kann. Der Harn von den Tagen, an welchen Benzoessäure eingeführt war, wurde nach der Bunge-Schmiedeberg'schen ¹⁾ Methode auf Hippursäure und Benzoessäure untersucht.

Es wurden 3—400 Cc. Harn, nachdem ich mich von ihrer alkalischen Reaction überzeugt, auf dem Wasserbad

¹⁾ Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol., VI., p. 233.

zum Syrup eingeengt, der Syrup mit grossen Mengen absoluten Alkohols in einen Ballon gespült und mehrere Stunden bis zu völliger Klärung stehen gelassen. Der alkoholische Auszug wird filtrirt und wieder zum Syrup eingedampft, bis aller Alkohol entwichen. Dann wird er in einen kleinen Ballon gespült, mit Salzsäure versetzt und wiederholt mit Essigäther ausgeschüttelt. Die vereinigten Mengen Essigäther wurden gemessen und aliquote Theile zur Analyse benutzt. Der zur Analyse abgemessene Essigäther wird mit kleinen Mengen Wasser gewaschen, dem man zweckmässiger Weise etwas Kochsalz zufügt, weil dann die Trennung des Wassers vom Essigäther besser zu Stande kommt, und bei Zimmertemperatur verdunstet, da selbst ein Abdunsten bei 30—40° die Bestimmung der Benzoessäure deren Flüchtigkeit wegen unsicher macht. Der hierbei gewonnene Rückstand wird mit Petroleumäther so lange extrahirt, als er noch etwas aufnimmt. Der Rückstand des bei Zimmertemperatur verdunsteten Petroleumäthers gibt das Gewicht der Benzoessäure. Der mit Petroleumäther behandelte Essigätherrückstand wird mit wenig Wasser auf dem Dampfbad erhitzt, in der Kälte stehen gelassen, die Mutterlauge durch ein Filter decantirt und die Krystalle mit wenig Wasser gewaschen. Die auf das Filter gekommenen Hippursäurekrystalle werden in die Glasschale zurückgespritzt, und die Hippursäure in der Schale getrocknet und gewogen.

Die Genauigkeit der Hippursäure-Bestimmungsmethode von Bunge und Schmiedeberg ist neuerdings von Jaarsveld und Stokvis¹⁾ in Zweifel gezogen worden. Bunge und Schmiedeberg haben in exaktester Weise die Zuverlässigkeit ihrer Methode bewiesen. Ich habe bei Anwendung derselben stets untereinander gut übereinstimmende Zahlen erhalten. Da Jaarsveld und Stokvis höchstens 20—30% der zugesetzten Hippursäure wiederfanden, ja sogar in den Harnportionen, zu welchen sie keine Hippursäure gesetzt, mehr fanden als in den noch mit Hippursäure versetzten Harnportionen, so vermuthe ich, dass diese auffallende Er-

¹⁾ Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. X., p. 268.

scheinung sich durch eine unrichtige Anwendung der Methode erklärt. Wo die Fehler begangen sind, lässt sich nicht angeben, da Jaarsveld und Stokvis ihre Versuche nicht genau genug beschreiben, um dies beurtheilen zu können. Die von Jaarsveld und Stokvis angegebene Verunreinigung der nach Schmiedeberg-Bunge's Methode gewonnenen Hippursäure mit Harnstoff muss ich durchaus in Abrede stellen. Die gewonnene Hippursäure erwies sich stets als rein.

Da Kartoffel der Hippursäurebildung energischer entgegen wirken wie Bohnen, so stellte ich den ersten Versuch bei reiner Kartoffelnahrung an. Der Hammel erhielt 9 Tage lang ungeschälte Kartoffel. Nur am 4. Tage wurden, da ein Durchfall eintrat, 200 gr. Bohnenmehl zugefügt. Vom 5. bis 9. Tage wird der Harn, der stets alkalisch reagirte, mit Salzsäure, wie oben angegeben, auf Hippursäure untersucht und am 10. Tage Benzoesäure eingegeben. Vom 1.—5. Versuchstage hatte das Thier täglich 2 200 gr. Kartoffel konsumirt. Das weitere zeigt die Tabelle:

Versuch I.

| Versuchs-Tag. | Nahrung. | H ₂ O consumirt | Harn. | Zur Bestimmung benutzt. | Hippursäure. | Benzoösäure. | Bemerkung. |
|---------------|------------|----------------------------|-------|-------------------------|------------------------|------------------------|---------------------------|
| 5. | 2247 Kart. | 30 | 864 | 300 | 0 | — | — |
| 6. | 2400 » | 15 | 1372 | 300 | 0 | — | — |
| 7. | 2400 » | 40 | 1028 | 300 | 0 | — | — |
| 8. | 2400 » | 30 | 1410 | 400 | 0 | — | — |
| 9. | 2400 » | 35 | 1362 | 400 | 0 | — | — |
| 10. | 3165 » | 60 | 1845 | 400 | a) 5,5880 b) 5,5004 | a) 1,1222 b) 1,1490 | 5,9 Benzoës. als Kalisalz |
| 11. | 2400 » | 45 | 1344 | 400 | 0 | — | — |
| 12. | 2400 » | 30 | 1322 | 400 | 0 | — | — |

Am 10. Versuchstage wurden dem Thier 5,9 Benzoesäure in ca. 100 Cc. Wasser als Kalisalz gelöst von 12—3 Uhr in kleinen Portionen eingeführt. Beim Eingeben fand ein ziemlich erheblicher Verlust statt. Der zum Ausschütteln benutzte Essigäther betrug 318 Cc.

a) 80 Cc. desselben gaben 0,0612 Benzoesäure,

» » » 0,3048 Hippursäure.

b) 60 Cc. desselben gaben 0,0474 Benzoesäure,
 » » » 0,2250 Hippursäure:

Das Mittel der Hippursäureausscheidung beträgt 5,5442.

» » » Benzoesäure » » 1,1356.

5,5442 Hippursäure sind äquivalent 3,7787 Benzoesäure.

Setzen wir die Summe dieser als Hippursäure erschienenen und der unverändert im Harn aufgetretenen Benzoesäure = 100, so waren:

| | | |
|-----------------|---------------|--------|
| unverwandelt | ausgeschieden | 22,9% |
| als Hippursäure | » | 77,1 » |

Das Resultat dieser Versuchsreihe bestätigt durchaus nicht die Weiske'sche Beobachtung. Da es jedoch möglich war, dass die verschiedene Zusammensetzung der von Weiske und mir benutzten Kartoffel Ursache des nicht übereinstimmenden Resultates war, so habe ich die wichtigsten Bestandtheile der von mir benutzten Kartoffel bestimmt, um beurtheilen zu können, ob ich es mit einer Kartoffel von normaler Zusammensetzung zu thun hatte.

Die Kartoffel enthielt in 100 Theilen:

| | |
|-------|--------------------|
| 24,76 | Trockensubstanz, |
| 75,24 | H ₂ O, |
| 14,04 | Stärke, |
| 0,537 | K ₂ O, |
| 0,007 | Na ₂ O. |

Die Kartoffel ist etwas stärkearm, ihr Gehalt an Alkalien durchaus normal.

Aus zwei Gründen konnte meine Versuchsreihe nicht als Widerlegung der Beobachtung von Weiske angesehen werden. Weiske hatte die bezügliche Erscheinung bei Fütterung mit Kartoffeln und Ackerbohnen beobachtet, und ferner die Benzoesäure in Wasser suspendirt dem Thier sehr allmählich beigebracht. Letzterer Umstand konnte von grosser Wichtigkeit sein, da die durch die Fütterungsweise im Organismus des Versuchsthieres entstandenen Bedingungen vielleicht in der Zeiteinheit nur kleine Quantitäten Benzoesäure am Uebergang in Hippursäure hindern konnten, einem plötzlichen Andrang der Benzoesäure aber eventuell nicht ge-

wachsen waren. Es musste die Resorption der in Substanz eingegebenen Benzoesäure viel langsamer vor sich gehen, als die des gelösten Kalisalzes, wenn auch im sauren Magensaft ein Theil der Benzoesäure ausgefällt wurde.

Um den Werth dieser Einwände zu prüfen, habe ich eine zweite Versuchsreihe direct der ersten angeschlossen, in welcher das Thier täglich 500 gr. Ackerbohnen und 1600 gr. Kartoffeln erhielt. Weiske hatte 500 gr. Ackerbohnen und 1500 gr. Kartoffeln verabreicht, also stimmte meine Fütterungsweise mit der seinigen hinreichend überein. Die Vorfütterung dauerte 8 Tage und wird der Harn vom 7. u. 8. Versuchstage mit Salzsäure auf Hippursäure untersucht.

Versuch II.

| Versuchs-Tag. | Nahrung. | H ₂ O Consum. | Harn. | Zur Bestimmung benutzt. | Hippursäure. | Benzoesäure. | Bemerkung. |
|---------------|------------------------------------|--------------------------|-------|-------------------------|------------------------|------------------------|--------------------|
| 7. | 500 gr. Ackerb. 1600 » Kartoff. | 630 | 978 | 400 | 0 | — | — |
| 8. | » » | 860 | 1572 | 400 | 0 | — | — |
| 9. | » » | 685 | 1684 | 300 | a) 7,9525 b) 7,8750 | a) 0,1416 b) 0,1563 | 5,564 Benzoesäure. |
| 10. | » » | 885 | 1134 | 400 | 0 | — | — |
| 11. | » » | 850 | 928 | 300 | 0 | — | — |
| 12. | » » | 805 | 1464 | 300 | a) 7,6875 b) 7,6191 | a) 0,2962 b) 0,1747 | 5,786 Benzoesäure. |
| 13. | » » | 755 | 1204 | 400 | 0 | — | — |

Am 9. Versuchstage werden dem Hammel 5,564 Benzoesäure von 9— $\frac{1}{2}$ 7 Uhr mit Intervallen von je einer Stunde in kleinen Quantitäten eingegeben. Ich hielt es nicht für zweckmässig die Benzoesäure in Wasser suspendirt einzuführen, erstlich weil dabei Verluste unvermeidlich, zweitens weil dadurch ein sehr unangenehmes kratzendes Gefühl im Oesophagus entsteht, wovon man sich leicht durch Selbstversuch überzeugt. Ich gab die Säure in der Weise ein, dass ich ein Stück Oblate von ca. 5 Cent. im Quadrate in Wasser tauchte, auf einen Esslöffel breitete, die Säure darauf brachte, die Oblate schloss, und nun etwas Wasser auf den Löffel spritzte, so dass die Oblate im Wasser schwamm. Es lässt sich so jeglicher Verlust beim Einführen vermeiden. Der Harn reagierte während der ganzen Reihe alkalisch.

300 Cc. des Harns vom 9. Versuchstag werden wie oben angegeben behandelt und mit 196 Cc. Essigäther successive ausgeschüttelt.

a) 80 Cc. desselben gaben 0,0103 Benzoessäure

» » » 0,5783 Hippursäure.

b) 60 Cc. desselben gaben 0,0085 Benzoessäure

» » » 0,4295 Hippursäure.

Das Mittel der Benzoessäureausscheidung beträgt 0,1489.

» » Hippursäure » » 7,9137,

äquivalent 5,3936 Benzoessäure.

Von den eingeführten 5,564 Benzoessäure sind also

unverändert ausgetreten 2,7%

in Hippursäure verwandelt 96,9%

Summa 99,6%

Um meines Resultates vollständig sicher zu sein, führte ich am 12. Versuchstag wieder, und zwar 5,786 Benzoessäure in ebenderselben Weise von 10— $\frac{1}{2}$ 6 Uhr ein.

300 Cc. des Harns vom 12. Versuchstag, wie oben angegeben behandelt, werden mit 278 Cc. Essigäther successive ausgeschüttelt.

a) 60 Cc. desselben gaben 0,3400 Hippursäure

» » » 0,0131 Benzoessäure.

b) 80 Cc. desselben gaben 0,4493 Hippursäure

» » » 0,0103 Benzoessäure.

Das Mittel der Benzoessäureausscheidung beträgt 0,2354.

» » » Hippursäure » » 7,6533,

äquivalent 5,2162 Benzoessäure.

Von den eingegebenen 5,786 Benzoessäure waren

unverändert ausgeschieden 4,1%

in Hippursäure verwandelt 90,1%

der Bestimmung entgangen 5,8%

Die Genauigkeit, mit welcher es mir gelang bei Anwendung der Bunge-Schmiedeberg'schen Methode fast die ganze Menge der eingeführten Benzoessäure im Harn theils

als solche, theils als Hippursäure zu finden, spricht sehr gegen die Ansicht von Jaarsveld und Stokvis, dass die betreffende Methode unzuverlässige Werthe liefere, und bis zu 30% der zugesetzten Hippursäure sich der Bestimmung entzögen.

Wie das Experiment gezeigt, verwandelt auch bei einem aus Kartoffeln und Ackerbohnen bestehenden Futter der Hammel Benzoesäure fast vollständig in Hippursäure. Dass bei reiner Kartoffelnahrung verhältnissmässig mehr Benzoesäure unverändert ausgeschieden wurde, ist entweder dem zu schnellen Eingeben oder der Eiweissarmuth der Kartoffeln, die nicht hinreichend Glycocolle lieferten, zuzuschreiben.

Es fragt sich nun, wie die entgegengesetzten Resultate, die Weiske und ich bei unseren Untersuchungen erhalten haben, zu erklären sind. Dass Rassenunterschiede oder verschiedene Zusammensetzung der beiderseits benutzten Kartoffeln eine so grosse Verschiedenheit physiologischer Functionen bedingen können, erscheint sehr unwahrscheinlich. Eine Verwechslung von Benzoesäure und Hippursäure ist ebensowenig möglich. Als mögliche Erklärung möchte ich an die Beobachtung Lehmanns¹⁾ erinnern, der fand, dass wenn man kleine Mengen faulen Harns zu frischem hippursäurehaltigem setzte und eindampfte, eine Zersetzung der Hippursäure stattfand. Falls die Reinigung des Harntrichters, Schlauches und der Harnflasche nicht täglich sorgfältig vorgenommen wird, könnte es wohl sein, dass Fermente sich in denselben bilden und eine Spaltung der Hippursäure verursachen.

Es ist auffallend, dass nachdem Weiske einmal im Harn statt der Hippursäure Benzoesäure gefunden, von da an im Harn immer nur Benzoesäure, selbst bei Einführung von Hippursäure auftritt. Es ist zu bedauern, dass dem Kartoffel-Bohnen-Versuch nicht eine wenn auch kurze Fütterungsreihe mit einer sicher hippursäurebildenden Nahrung folgte. Wenn Fermente in Trichter und Schlauch oder pathologischer Zustand des Thieres an dem constanten Auf-

¹⁾ Gmelin VIII, p. 333.

treten von Benzoesäure an Stelle der Hippursäure betheiligt waren, so musste auch jetzt nur Benzoesäure im Harn erscheinen. Leider schliessen Weiske's Versuche mit der Kartoffel-Bohnenreihe.

Diese sowie meine beiden früheren in dieser Zeitschrift veröffentlichten Arbeiten sind im chemischen Laboratorium zu Dorpat ausgeführt. Für die Liberalität, mit der mir alle Hilfsmittel dieses Instituts in reichstem Masse zu Gebote standen, sage ich Herrn Prof. C. Schmidt meinen aufrichtigsten Dank.
