

Ueber das Vorkommen und die Entstehung von Methylamin und Methylharnstoff im Harn

von Dr. J. Schiffer (Berlin-Carlsbad).

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Laboratoriums zu Berlin.)
(Der Redaktion zugegangen am 24. April.)

In ihrer Arbeit: «Ueber das Verhalten des Sarkosins im Organismus»¹⁾ stellten sich Baumann und v. Mering u. A. die Frage, ob das Sarkosin etwa beim Menschen zur Bildung primärer Aminbasen Veranlassung gebe. Als sie jedoch zur Controle normalen menschlichen Harn untersuchten, fanden sie, dass schon dieser Isonitrilreaction gebe und wie es schien nicht schwächer, als nach Sarkosingenuss. Sie verfolgten den Gegenstand zunächst nicht weiter, kamen aber auch später auf denselben nicht mehr zurück. E. Salkowski²⁾, der mit Milch und Brod gefütterten Hunden Sarkosin beibrachte, fand an den Sarkosintagen im Harn deutliche Isonitrilreaction, während sie an den sarkosinfreien Tagen fehlte. Er versuchte auch den vorausgesetzten Methylharnstoff auf indirectem Wege quantitativ zu bestimmen, indem er den sämtlichen Harnstoff in Ammoniak überführte, mit Platin fällte, den Platinsalmiak mit chromsaurem Blei und vorgelegtem Kupfer verbrannte und so dessen Kohlenstoffgehalt bestimmte. Der Versuch führte insofern zu keinem entscheidenden Resultat, als auch der von Normaltagen herrührende Platinsalmiak sich kohlenstoffhaltig und die Differenz zu Gunsten der Sarkosintage sich als eine sehr

¹⁾ Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. VIII., p. 587.

²⁾ Ebendas. p. 638 und Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. IV, p. 144.

geringe erwies. Bei mit Fleisch gefütterten Hunden erhielt S. bei Verarbeitung grösserer Harnmengen Isonitrilreaction. In einer andern Arbeit behandelt derselbe Autor¹⁾ den Gegenstand aus einem andern Gesichtspunkte. Um den Vorgang der Harnstoffbildung aus Ammoniak im Thierkörper aufzuklären gab er Thieren Methyl- oder Aethylamin um danach die etwaige Bildung der entsprechend substituirten Harnstoffe festzustellen. Nach subcutaner Injection von über 7 grm. salzsauren Methylamins bei einem Kaninchen, ging ein Theil des Methylamins unverändert in den Harn über; der Versuch aus dem Harn Methylharnstoff darzustellen führte zu keinem Resultat. In einem andern Versuch mit Fütterung von 6 grm. Aethylamin wurde der Harn mit Kalkmilch gemischt, in dem Schlösing'schen Apparat von Ammoniak befreit und darauf die Mischung weiter geprüft: sie gab Isonitrilreaction. Eine Kohlenstoffbestimmung in ähnlicher Weise wie oben ergab niedrige Werthe, so dass Verfasser wohl die Bildung kleiner Mengen substituirten Harnstoffs für wahrscheinlich hält, ohne jedoch seine Versuche für ganz beweisend auszugeben. Schmiedeberg²⁾ gelang es bei Hunden nach Fütterung mit kohlensaurem Aethylamin den Aethylharnstoff isolirt darzustellen, jedoch war die Ausbeute eine sehr geringe. Das ist Alles, was mir an Literaturangaben über diesen Gegenstand zugänglich war.

Bei meinen eigenen Versuchen prüfte ich zunächst den normalen Harn von Hunden, die mit Pferdefleisch gefüttert waren. Von diesem Harn wurden 50 Cc. mit 25 Cc. reiner Kalilauge vermischt, vorsichtig destillirt, das Destillat mit ClH schwach angesäuert, eingedampft und mit dem Rückstand die Hofman'sche Isonitrilreaction angestellt. Der penetrante Geruch nach Isocyanür war in intensiver Weise wahrzunehmen. Das Vorhandensein eines primären Amins im Harn des Fleischfressers war damit erwiesen. Beiläufig bemerkt er-

¹⁾ Ueber den Vorgang der Harnstoffbildung im Thierkörper und den Einfluss der Ammoniaksalze auf denselben. Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. I., p. 33.

²⁾ Arch. f. exp. Path. u. Ther. Bd. VIII., p. 5.

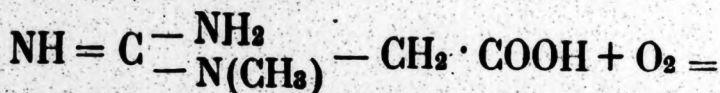
hielt ich auch mit menschlichem Harn, wie es auch Baumann und v. Mering angeben (s. oben) dieselbe Reaction, aber schwächer als im Hundeharn nach Fleischfütterung. In einem weiteren Versuch wurden 25 Cc. von dem gleichen Hundeharn mit Kalkmilch vermischt und in den Schlösing'schen Apparat gebracht. Nach 48 Stunden zeigte die aus dem Apparat entnommene Normalschwefelsäure ohne Weiteres Isonitrilreaction. Zu dem Gemisch von Kalkmilch und Harn wurde noch etwas Kalilauge hinzugesetzt und wie oben destillirt. Das eingedampfte saure Destillat gab keine, oder durchaus zweifelhafte Isonitrilreaction. Die im Hundeharn vorhandene primäre Aminbase wird also durch Kalkmilch im Schlösing'schen Apparat vollständig ausgetrieben. Es handelte sich nun zunächst darum, die so signalisirte Base näher festzustellen. Diese Aufgabe versuchte ich auf einem Umwege zu lösen.

Zunächst untersuchte ich den Harn von Kaninchen, die mit Haferkörnern gefüttert wurden. Derselbe, wie oben behandelt, giebt nur schwache, bisweilen sogar gar keine Isonitrilreaction. Der diese Reaction veranlassende Körper kann also im Harn pflanzenfressender Kaninchen gar nicht, oder höchstens in Spuren vorhanden sein.

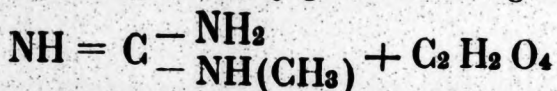
Woher rührt dieser Unterschied zwischen Fleisch- und Pflanzenfressern? Welches ist die Substanz, die bei Fleischfütterung zur Bildung und Ausscheidung primärer Amine führt? Gelingt es diese Quelle aufzudecken, so können wir auch über die Natur der signalisirten Base Aufschluss erhalten.

Unser Augenmerk richtet sich zunächst auf das Kreatin. Es ist bekannt, dass die Abscheidung desselben wesentlich von der Nahrung abhängt, dass es im Harn fleischfressender Hunde in grösserer Menge, dagegen im Harn mit Pflanzen gefütterter Kaninchen nur in Spuren vorhanden ist. Dazu kommt, dass unter den Zersetzungsproducten des Kreatins primäre Aminbasen erscheinen. Das Kreatin zerfällt durch Oxydationsprozesse in Methylguanidin und Oxalsäure. Aus Methylguanidin bildet sich durch Hinzutritt des Wassermo-

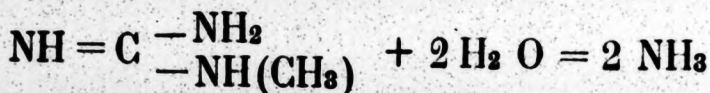
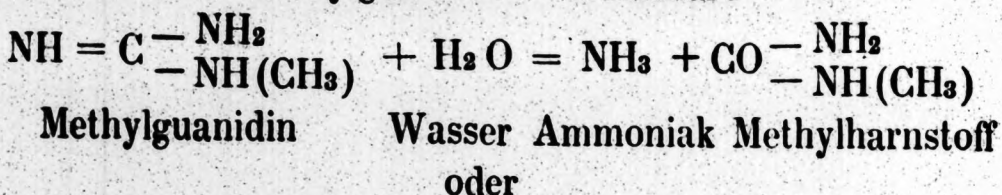
lecüls entweder Ammoniak und Methylharnstoff oder Ammoniak, Methylamin und Kohlensäure wie die folgenden Formeln leicht veranschaulichen:



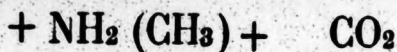
Kreatin oder Methylguanidinessigsäure



Methylguanidin Oxalsäure



Methylguanidin Wasser Ammoniak



Methylamin Kohlensäure

Wahrscheinlich finden im Organismus und besonders im Darm ähnliche Zersetzungen statt. Diese Vermuthung würde bei der Aehnlichkeit, die zwischen manchen Vorgängen im Darm und Fäulnissprozessen besteht, eine wesentliche Stütze erhalten, wenn nachgewiesen wäre, dass das Kreatin durch Fäulniss gleiche Spaltungsproducte liefert. Einige Angaben in dieser Richtung liegen bereits vor. Voit¹⁾ fand, dass das Kreatin im erstarrenden Muskel rasch abnimmt (schon nach 24 Stunden ist die Abnahme deutlich nachweisbar) und zuletzt bei vollkommen ausgebildeter Fäulniss ganz verschwunden ist. Kreatinlösungen mit Hefe oder mit Fleischstücken versetzt wurden nach wenigen Tagen alkalisch und gaben bedeutende Ammoniakentwicklung. Auch hier verschwand das Kreatin schliesslich ganz. Weitere Mittheilungen über sonstige Spaltungsprodukte des faulenden Kreatins scheinen leider nicht vorzuliegen; es wäre sehr zu wünschen, dass diese Lücke bald ausgefüllt würde.

Der hier angedeuteten Hypothese dient ferner noch

¹⁾ Zeitschr. f. Biolog. Bd. IV., p. 92.

als wichtige Stütze, dass uns im Organismus kein anderer Körper bekannt ist, aus dessen Zersetzung primäre Aminbasen hervorgehen könnten, als das Kreatin.

Nach den eben gemachten Erörterungen schien es geboten zur Entscheidung der Frage directe Versuche mit Kreatinfütterung vorzunehmen. Derartige Versuche, freilich aus anderem Gesichtspunkte angestellt, liegen bereits zahlreich vor. Besonders nach der oben citirten grösseren Arbeit von Voit befestigte sich die Annahme, dass das Kreatin (resp. Kreatinin) den Körper unverändert verlässt. Aber aus den Versuchen von Voit geht nur hervor, dass bei Fütterung bedeutender Kreatinmengen der grössere Theil unverändert abgeht. Ein anderer u. z. recht ansehnlicher Theil konnte im Harn nicht wieder aufgefunden werden, und es steht Nichts im Wege anzunehmen, dass das Deficit sich, wenigstens zum Theil, auf Veränderungen in der oben ange deuteten Richtung zurückführen lasse.

Die Versuche selbst wurden in folgender Weise ausgeführt. Nachdem, wie bereits erwähnt, festgestellt war, dass der Harn eines mit Hafer gefütterten Kaninchens keine oder nur eine schwache Isonitrilreaction gab, wurden einem solchen Thier 1—1,5 grm. Kreatin in wässriger Lösung mittelst Katheters in den Magen gebracht. Das Präparat war von Herrn Professor Baumann aus Cyanamid und Sarkosin synthetisch dargestellt und mir bereitwilligst zur Verfügung überlassen worden. Nach der Injection wurde das Thier wieder in seinen Käfig gesetzt, eine Art von grossem Glas-trichter, in dem ein Sieb für Trennung der Fäces vom Harn sorgte. Der in den nächsten 24 Stunden gelassene Harn wurde zur Beseitigung etwa beigemischter Fäcalien colirt und darauf in der bereits geschilderten Weise destillirt. Der Rückstand des angesäuerten, eingedampften Destillats gab starke Isonitrilreaction, unvergleichlich stärker, als sie bei normalem Kaninchenharn beobachtet wurde. Auch am 2. und 3. Tage war die Reaction noch in intensiver Weise wahrzunehmen, bei einzelnen Kaninchen sogar noch länger, selbst bis zum 5. Tage. Offenbar bedarf das Kreatin zu

seiner Resorption vom Darmkanal aus einer längeren, bei den einzelnen Thieren verschiedenen Zeit, so dass die Ausscheidung seiner Spaltproducte mehrere Tage und bei den einzelnen Thieren verschieden lang anhält. Uebrigens hat schon Voit in der mehrfach citirten Arbeit hervorgehoben, dass nach grösseren Kreatingaben eine vermehrte Ausscheidung desselben mehrere Tage andauert. Zur Destillation wurden vom normalen Harn 80--100 Cc. vom Kreatinharn die Hälfte verwendet. Als Beispiel sei aus meinen Protocollen ein Versuch hier kurz angeführt:

Einem wie gewöhnlich mit Haferkörnern gefütterten Kaninchen wurde am 12./3. cr. die Blase ausgedrückt, der so gewonnene Harn mit dem früher gelassenen vereinigt, darauf durch Leinwand filtrirt. Von dem Filtrat wurden 60 Cc. mit 30 Cc. reiner Kalilauge vermischt und das Gemisch vorsichtig über kleiner Flamme destillirt. Das Destillat wurde mit Salzsäure schwach angesäuert und eingedampft, der Rückstand mit wenig Alkohol ausgezogen und damit die Isonitrilreaction gemacht. Sie fiel zweifelhaft aus. Im besten Fall war sie sehr schwach zu nennen. Nun wurde dem Thier 1,0 grm. Kreatin in wässriger Lösung in den Magen gebracht. Am nächsten Tage hatte es ca. 40 Cc. Harn gelassen, diese wurden wiederum mit Kalilauge destillirt. Schon jetzt gab das Destillat ohne Weiteres die Hofmann'sche Reaction. Dieselbe trat in intensiver Weise auf, als das Destillat wie oben eingedampft und mit Alkohol aufgenommen wurde. In den nächsten zwei Tagen liess das Thier keinen Harn, so, dass am 15. erst ein Quantum durch Ausdrücken der Blase gewonnen wurde. 50 Cc. davon wie oben behandelt gaben noch starke Reaction. Ebenso verhielt es sich am 16. Erst am 17. war die Reaction bedeutend schwächer und am 18. kaum mehr nachzuweisen.

Zur Controlle wurden 0,5 gr. Kreatin in Wasser gelöst und mit Kalilauge destillirt. Wie zu erwarten, gab das Destillat keine Isonitrilreaction. Denn beim Erhitzen mit wässrigen Alkalien zerfällt das Kreatin in Ammoniak, Kohlensäure

und Sarkosin. Das Sarkosin seinerseits zerfällt in Berührung mit starken Alkalien erst bei hohen Hitzegraden in Methylamin und Kohlensäure z. B. beim Glühen mit Natronkalk. Immerhin ist es nothwendig vorsichtig zu destilliren. Bei starker Flamme z. B. können die Seitenwände des Destillirkolbens überhitzt werden und so, da die Flüssigkeit stark schäumt, zur Zersetzung kleiner Kreatinmengen bis zu Methylamin Veranlassung geben.

Die nächste Aufgabe war nun festzustellen, ob die im Kreatinharn der Kaninchen erscheinende Aminbase sich im Schlösing'schen Apparat ähnlich verhält, wie beim Hundeharn. Deshalb wurde der folgende Versuch angestellt. Ein grosses Kaninchen erhielt am 1. April cr. 1,5 grm. Kreatin in Wasser gelöst in den Magen injicirt. Bis zum 3. hatte es erst 10 Cc. Harn entleert. Am 5. fanden sich 205 Cc. vor. Von dieser ganzen Menge wurden 25 Cc. mit Kalkmilch gemischt, in den Schlösing'schen Apparat gebracht. Die nach 48 Stunden aus dem Apparat entnommene Normalschwefelsäure gab keine Isonitrilreaction. Auch als die gesammte Schwefelsäure mit Kalilauge destillirt wurde, blieb das Resultat negativ. Dagegen gab das Gemisch von Harn und Kalkmilch, nachdem es unter Zusatz von etwas Kalilauge destillirt worden war, eine starke Reaction¹⁾. Die im Kaninchenharn nach Kreatinfütterung auftretende Aminbase wird also im Schlösing'schen Apparat durch Kalkmilch nicht ausgetrieben.

Ueberblicken wir nunmehr die Ergebnisse der bisher mitgetheilten Versuche. Wir haben gesehen, wenn wir hier den menschlichen Harn ausser Acht lassen, dass der nor-

¹⁾ Ich bemerke hier, dass nach dem Eindampfen des Destillats vom Hunde- und vom Kaninchenharn der Rückstand jedesmal den charakteristischen Cumaringeruch zeigte. Derselbe trat besonders deutlich auf, wenn der Rückstand mit Alkohol übergossen wurde. Hoppe-Seyler hat das Cumarin bereits im Pferdeharn nachgewiesen; wie es scheint, ist es jedoch auch im Harn fleischfressender Hunde vorhanden. Bei der Behandlung des menschlichen Harns habe ich auf diesen Punkt nicht geachtet.

male Harn mit Fleisch genährter Hunde eine primäre Aminbase enthält die durch Kalkmilch in der Kälte vollständig ausgetrieben wird. Der normale Harn mit Pflanzen gefütterter Kaninchen enthält eine solche Base gar nicht, oder höchstens in geringen Spuren. Bringt man aber diesen Thieren Kreatin bei, so giebt ihr Harn dann ebenfalls Isonitrilreaction. Es gelingt aber nicht die hier vorhandene Aminbase durch das Schlösingsche Verfahren auszutreiben; erst durch energischere Zersetzungsmittel, wie Destillation mit starken Alkalien kann sie gewonnen werden.

Welches ist nun die uns beschäftigende Aminbase? An der Hand der bisher mitgetheilten Ergebnisse können wir sie wohl mit einiger Sicherheit erschliessen. Da sie im normalen Kaninchenharn nicht vorhanden ist, wohl aber nach Kreatinfütterung auftritt, so müssen wir sie unter den Derivaten dieser Substanz aufsuchen. Als solche können aber nur das Methylamin und der Methylharnstoff in Betracht kommen. Durch den Versuch im Schlösing'schen Apparat ist das Methylamin ausgeschlossen, es bleibt also nur der Methylharnstoff übrig. Ob dieser sich direct aus dem Kreatin abspaltet, oder sich im Kaninchenkörper erst aus Methylamin bildet, das bleibe vorläufig dahingestellt, wir kommen später auf diesen Gegenstand zurück.

Dass die Aminbase im Harn des Hundes den nämlichen Ursprung habe, wie beim Kaninchen, dafür spricht zunächst die Analogie. Dazu kommt, dass der Harn des Fleischfressers sich von dem des Pflanzenfressers wesentlich durch die grosse Menge des zur Ausscheidung gelangenden Kreatins unterscheidet. Endlich ist uns im Thierkörper, ausser dem Kreatin keine andere Substanz bekannt, wenigstens bis jetzt nicht, die zur Bildung primärer Amine Veranlassung geben könnte. Die hier angedeutete Schlussfolgerung würde eine wesentliche Stütze gewinnen, wenn es gelänge, auch im Harn des Fleischfressers die Aminbase bei Darreichung eines kreatinarmen Futters gänzlich oder doch nahezu zum Verschwinden zu bringen. Zu dem Zweck wurde derselbe Hund, dessen Harn bei Fleischfütterung starke Isonitrilreaction gab, mit Milch ge-

nährt. Um Durchfälle zu vermeiden wurde zur Milch etwas Gummi arabicum hinzugefügt. Schon am 3. Tage nach der Milchfütterung war eine deutliche Abnahme der Isonitrilreaction im Hundeharn nachzuweisen; am 5. Tage war die Reaction kaum noch zu constatiren, trotzdem 100 Cc Harn verarbeitet wurden. Ueber den 5. Tag hinaus wurde der Versuch nicht fortgesetzt. Er hatte zur Genüge festgestellt, dass mit dem Schwinden des Kreatins auch das der primären Aminbase im Harn Hand in Hand ging. Allerdings enthält der Organismus auch bei kreatinfreier Nahrung noch immer erhebliche Mengen Kreatin, namentlich in den Muskeln — für Kaninchenmuskeln giebt Voit 0,3—0,4 % an —; es scheint jedoch, dass der Körper bei einem gewissen niedrigen Bestand an Kreatin dasselbe nur sehr allmählig abgiebt, und es dann erst in grösserer Menge excernirt, wenn es durch die Nahrung in entsprechendem Maasse zugeführt worden ist.

Nach dem eben Mitgetheilten darf man wohl mit einiger Sicherheit schliessen, dass die im Hundeharn nachgewiesene Aminbase sich vom Kreatin herleite. Da sie durch Kalkmilch im Schlösing'schen Apparat ausgetrieben wird kann es sich nur um Methylamin handeln. Wir würden demnach anzunehmen haben, dass die Methylguanidingruppe des Kreatins im Hundekörper in Ammoniak, Methylamin und Kohlensäure übergeht. Es ist das Nächstliegende anzunehmen, dass auch im Kaninchenkörper sich zunächst die gleiche Zersetzung des Kreatins vollzieht und dass das Methylamin dann im Körper in Methylharnstoff übergeht und als solcher zur Ausscheidung kommt. Um diesen Analogieschluss durch einen Versuch zu stützen, wurden einem Kaninchen 5 Mgrm. salzsauren Methylamins in den Magen gebracht, nachdem vorher die Blase ausgepresst war. Am nächsten Tage hatte das Thier noch keinen Harn entleert. Durch Ausdrücken der Blase wurden 21 Cc gewonnen. Diese Portion wurde in den Schlösingschen Apparat gebracht und zwei Tage darin gelassen. Die Normalschwefelsäure gab nun, selbst nach Verarbeitung der ganzen Menge, eine nur schwache Isonitril-

reaction; die 21 Cc. Harn dagegen, wie oben destillirt, eine intensive. Das verfütterte Methylamin war also fast ganz in Methylharnstoff übergegangen, nur Spuren waren unverändert zur Ausscheidung gelangt. Es wird durch diesen Versuch sehr wahrscheinlich, dass auch im Kaninchenkörper, ebenso wie beim Hund, das Kreatin in Methylamin übergeht, und dass sich erst aus diesem durch einen besonderen synthetischen Prozess Methylharnstoff bildet, während das Methylamin den Organismus des Fleischfressers unverändert passirt. Es scheint hier zwischen Fleisch- und Pflanzenfresser ein ähnlicher Unterschied vorzuliegen, wie er von Salkowski, Schmiedeberg, Hallervorden u. A. für die Harnstoffbildung aus Salmiak festgestellt ist. Der Organismus des Fleischfressers, der über überschüssiges Ammoniak verfügt, scheidet das stabilere Molekül des Methylamins unverändert aus, während im Körper des Pflanzenfressers, der relativ arm an Ammoniak ist, auch das Methylamin in den entsprechenden substituirten Harnstoff übergeht. Insofern freilich ergibt sich ein gewisser Widerspruch, als Schmiedeberg¹⁾ auch bei Hunden nach Fütterung mit kohlen-saurem Aethylamin den Aethylharnstoff im Harn nachweisen konnte. Jedoch giebt Sch. selbst an, dass die Ausbeute trotz ziemlich grosser, verfütterter Mengen eine äusserst geringe war. Der mitgetheilte Versuch mit Methylaminfütterung ist auch insofern bemerkenswerth, als er zeigt, dass so minimale Mengen wie 5 Mgrm. des salzsauren Salzes genügen, um die Base im Harn erscheinen zu lassen.

Der Ort, wo die Zersetzung des Kreatins hauptsächlich stattfindet, ist offenbar der Darm. Wir wissen, dass bei vielen Zersetzungen im Darm genau dieselben Produkte gebildet werden, wie bei der Fäulniss, nur dass dort die Prozesse viel rascher ablaufen. Jedoch spricht der folgende Versuch dafür, dass möglicher Weise auch in den Geweben das Kreatin in der uns beschäftigenden Weise zersetzt wird. Einem Kaninchen wurden 0,5 gm. Kreatin subcutan injicirt.

¹⁾ Arch. f. exper. Path. u. Ther. Bd. VIII., p. 5.

Am nächsten Tage wurden dem Thier 80 Cc. Harn ausgepresst und davon 50 Cc in der bekannten Weise verarbeitet. Es zeigte sich eine ziemlich starke Isonitrilreaction, unzweifelhaft stärker als von normalem Kaninchenharn. Der Versuch ist insofern nicht eindeutig, als die Möglichkeit nicht ausgeschlossen ist, dass bei Einverleibung einer so grossen Kreatinmenge, die das im Kaninchenkörper vorhandene etwa um die Hälfte steigert, eine Transsudation in den Darm, und sei sie auch noch so gering, stattfindet. Man kann also nur sagen, dass vielleicht auch in den Geweben dieselben Zersetzungen des Kreatins vor sich gehen, wie im Darm, freilich in weniger energischer Weise.

Es wäre wünschenswerth die hier mitgetheilten Resultate durch quantitative Bestimmungen zu erweitern. Aber abgesehen von der Unvollkommenheit der uns hier zu Gebote stehenden Methoden zwingen mich auch äussere Umstände die Arbeit jetzt abubrechen. Ich hoffe in Kurzem auf den Gegenstand wieder zurückzukommen.

Berlin, 20. April 1880.
