

Ueber das Schicksal des Sarkosins im menschlichen Organismus.

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

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Laboratoriums in Berlin).
(Der Redaktion zugegangen am 25. April 1881).

Wenige Arbeiten auf dem Gebiete der physiologischen Chemie haben in neuerer Zeit ein solches Aufsehen erregt, wie die von Schultzen über die Umwandlung des Sarkosins im thierischen Organismus. Im Verein mit Leon v. Nencki¹⁾ hatte er früher gefunden, dass Glycocollfütterung die Harnstoffausscheidung seinem N-Gehalt entsprechend vermehre. Um nun dem Einwand zu begegnen, dass dieses Plus auf einer durch die Amidosäure veranlassten Steigerung des Eiweisszerfalles beruhe, wiederholte er seine Versuche mit einer mit der Methylmarke versehenen Amidosäure d. h. mit dem Methylglycocoll oder Sarkosin. Eine vermehrte Harnstoffbildung trat nicht ein, dagegen erschienen im Harn zwei neue Körper, beide in analoger Weise zusammengesetzt; der eine aus Sarkosin und Carbaminsäure, der andere aus Sarkosin und Sulphaminsäure. Der erste dieser Körper war seiner Constitutionsformel nach mit der Methylhydantoinensäure identisch, die jedoch von Schultzen als solche nicht gekannt war. Er schloss aus seinen Versuchen, dass das Sarkosin die bei der Zersetzung der Eiweisskörper im Organismus entstehende und normaler Weise zur Bildung von Harnstoff dienende Carbaminsäure an sich reisse. Mit dieser Annahme stimmte es sehr schön, dass es ihm nicht gelang im Sarkosinharn Harnstoff aufzufinden. So schien ihm denn das Räthsel

¹⁾ Zeitschr. f. Biologie, Bd. VIII.

der Harnstoffbildung und damit eine der wichtigsten Fragen der physiologischen Chemie durch den überraschenden Erfolg geistreich combinirter Versuche in glatter Weise gelöst.

Das glänzende Ergebniss der Schultzen'schen Untersuchung, die Sicherheit mit der es vorgetragen wurde, schien die Augen der Kritik zu blenden und es dauerte angesichts der weittragenden Bedeutung des Gegenstandes lange, bevor eine Nachprüfung erfolgte. Zunächst erschienen noch einige für Schultzen günstige Publikationen. Salkowski¹⁾ fand, dass nach Genuss von Taurin die Uramidosäure desselben, die Taurocarbaminsäure, im Harn auftrat und lieferte damit einen Analogiebeweis für die Bildung der Uramidosäure des Sarkosins im Organismus, eben der Methylhydantoinsäure. Er erwähnte ferner, dass auch aus Amidobenzoësäure im Organismus Uramidobenzoësäure entstehe, doch fehlen über diesen Punkt die näheren Angaben. Weiter gelang es E. Baumann und Hoppe-Seyler²⁾ die Methylhydantoinsäure synthetisch darzustellen unter Bedingungen, wie sie auch dem thierischen Organismus zu Gebote stehen können. Aequivalente Mengen von Sarkosin, Kaliumcyanat und Ammoniumsulfat wurden bei 40° C. digerirt, das gebildete Kaliumsulfat mit Alkohol ausgefällt und darauf das Barytsalz der genannten Säure gewonnen. Auf gleiche Weise stellte um dieselbe Zeit Salkowski³⁾ die Säure oder vielmehr ihr Anhydrid, in das sie sehr leicht übergeht, das Methylhydantoin dar.

Bis dahin schien Alles sehr gut mit den Schultzen'schen Angaben zu stimmen. Als aber Nachprüfungen mit dem Sarkosin selbst ausgeführt wurden, ergaben sich wesentliche Abweichungen. Diese Nachprüfungen erfolgten gleichzeitig von E. Salkowski einer-, Baumann und v. Mering andererseits. In dem Fehlen der Sarkosinsulphaminsäure stimmten beide Arbeiten völlig überein. Was die Methylhydantoinsäure angeht, so sprach sich Salkowski⁴⁾ zuerst

¹⁾ Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. VI, S. 744.

²⁾ Ebendasselbst, Bd. VII, S. 34.

³⁾ Ebendasselbst, S. 116.

⁴⁾ Ebendasselbst, Bd. VIII, S. 115.

dahin aus, dass sie im Hundeharn nach Sarkosinfütterung wohl nur in geringer Menge vorhanden sei, während Baumann und von Mering in ihren Versuchen am Menschen zeigten, dass nach Sarkosingenuss, selbst bis zu 25,0 grm., die Methylhydantoinsäure im Harn vollständig fehle und dass auch Schultzen nach der ganzen Art seines Verfahrens diese Säure nicht in Händen gehabt haben könne. Zugleich deckten sie eine wahrscheinliche Fehlerquelle in den Angaben dieses Forschers auf, indem sie fanden, dass bei Gegenwart von Sarkosin die Liebig'sche Harnstoffreaktion ausbleibe. Endlich fanden sie, ebenso wie Salkowski, einen Theil des genossenen Sarkosins unverändert im Harn wieder. In späteren Mittheilungen schloss sich Salkowski der zuerst von Baumann und v. Mering ausgesprochenen Ansicht, nämlich dass nach Sarkosingenuss die Methylhydantoinsäure im Harn vollständig fehle, mehr an.

So war von den Schultzen'schen Angaben wenig übrig geblieben. Nur eine Möglichkeit war noch zu erörtern. Bei dem leichten Uebergang der Uramidosäuren in ihre Anhydride und speciell der Methylhydantoinsäure in Methylhydantoin, konnte man vermuthen, dass die letztere Substanz nach Sarkosinfütterung im Harn erscheine. Salkowski hat diesem Gegenstande unendlich viel Arbeit und Mühe zugewendet, ohne jedoch zum Ziele zu gelangen. Bei der Bunsen'schen Bestimmung zerfällt der Harnstoff in äquivalente Mengen CO_2 und NH_3 und die Alkaleszenz der Reaktionsflüssigkeit bleibt vor und nach dem Erhitzen unverändert. Werden aber die Anhydride gewisser Uramidosäuren u. A. das Hydantoin nach derselben Methode behandelt, so fand Salkowski nach dem Erhitzen das Verhältniss von CO_2 : NO_3 wie 2 : 1 und eine Abnahme der Alkaleszenz um die Hälfte. Auf Grund dieser Ermittlungen verglich Salkowski die nach der Bunsen'schen Bestimmung gewonnenen Zahlen von den Sarkosintagen mit denen von den Normaltagen. Die Zahlen der Sarkosintage sprachen wohl für eine Anwesenheit von «etwas Methylhydantoin», da jedoch die Differenzen gering waren,

1) Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. VIII, S. 584.

da ferner auch das Sarkosin bei der Bunsen'schen Bestimmung nicht unangegriffen bleibt und da sich endlich die Zahl für CO_2 nur auf eine einzige Bestimmung stützte, legte Salkowski selbst seiner Rechnung keinen besonderen Werth bei. Er selbst kommt zu dem Resultat, dass seine Sarkosinversuche eine Methylhydantoinbildung nicht beweisen.

Dies war der Stand der Sache, als mir Herr Professor Baumann mittheilte, dass das Methylhydantoin Kupfersulphat in alkalischer Lösung reducire und mich zugleich aufforderte die Sarkosinversuche, auf diese Erfahrung gestützt, auf's Neue aufzunehmen.

Bevor ich an die eigentliche Arbeit ging, suchte ich festzustellen, ob etwa andere in Betracht kommende Substanzen ebenfalls reducirende Eigenschaften besitzen. So prüfte ich Sarkosin, Methylhydantoin säure und Methylharnstoff alle drei mit negativem Erfolg. Was nun das Methylhydantoin selbst betrifft, so reducirt es etwas langsam; man muss länger erhitzen, als z. B. bei Gegenwart von Zucker, auch ist es zweckmässig der Fehling'schen Lösung noch etwas Alkali hinzuzusetzen. Nach einigem Erhitzen erfolgt dann eine sehr schöne Ausscheidung von rothem Kupferoxydul.

Bekanntlich besitzt auch der normale Harn reducirende Eigenschaften, die auf der Anwesenheit von Harnsäure, Kreatinin, und einiger Farbstoffe beruhen. Es war zwar trotzdem möglich auch geringe Mengen von Methylhydantoin im Harn nachzuweisen, indem von zwei gleichen Proben desselben Harnes die methylhydantoinhaltige erheblich mehr Kupfer reducirte. So reducirten 15 Cc. von einem Gemisch aus gleichen Theilen Wassers und menschlichen Harns von einer verdünnten Fehling'schen Lösung (25%) 10 Cc., während andere 15 Cc. von jenem Harn gemisch, denen 0,1 gr. Methylhydantoin zugesetzt war, 21 Cc. derselben Fehling'schen Lösung verbrauchten.

Da aber das Reduktionsvermögen des Harnes von verschiedenen Tagen nicht das gleiche blieb, schien es wünschenswerth bei den eigentlichen Versuchen die Störung durch andere reducirende Substanzen, als das Methylhydantoin aus-

zuschliessen. Das hierzu eingeschlagene Verfahren soll bei den Versuchen selbst mitgetheilt werden.

Zuerst wurde ein Probeversuch bei einem Kaninchen gemacht. Bei gleichartiger Fütterung schwankte das Reduktionsvermögen des gesammten in 24 Stunden entleerten Harnes für die verschiedenen Tage in nicht zu weiten Grenzen. Am 9/2 81 erhielt das Thier 0,5 gr. Sarkosin mittelst Schlundsonde. Der in den nächsten 24 Stunden entleerte Harn reducirte nicht mehr Fehling'sche Lösung, als an den vorhergehenden oder den folgenden Tagen. Die erhaltenen Zahlen erreichten vielmehr kaum den mittleren Durchschnitt. Es mag dahingestellt bleiben, ob die angewendete Sarkosinmenge zu klein war; da es aber nach anderweitigen Versuchen überhaupt zweifelhaft ist, ob der Kaninchenorganismus Uramidosäuren zu bilden vermag, so wurde von weiteren Versuchen an diesen Thieren Abstand genommen. Die entscheidenden Experimente wurden am Menschen ausgeführt.

Um die im normalen Harn enthaltenen reducirenden Substanzen zu entfernen, wurde folgendermassen verfahren: 250 Cc. Harn des Versuchsindividuum wurden eingedampft mit 200 Cc. 96% Alkohol aufgenommen, 700 Cc. Aether hinzugefügt, und filtrirt. Der Aether wurde abdestillirt, der alkoholische Rückstand auf ein kleines Volumen eingeeengt und nach dem Erkalten alkoholische Chlorzinklösung hinzugefügt und darauf in der Kälte 24 Stunden stehen gelassen. Von den gebildeten Chlorzinkkreatininkrystallen wurde abfiltrirt und die Ausfällung mit Chlorzink so lange wiederholt, als noch eine Abscheidung von Krystallen erfolgte. Nun wurde eingedampft, mit Wasser aufgenommen, mit basischem Bleiacetat gefällt, entbleit und die nunmehr fast farblose Flüssigkeit auf ein kleines Volumen, d. h. auf rund 20 Cc. gebracht. 10 Cc. davon, also die Hälfte der Gesammtmenge, entfärbten noch gerade 2 Cc. der verdünnten 25% Fehling'schen Lösung, eine Abscheidung von gelbem oder rothem Kupferoxydul trat nicht ein. Der Harn hatte also durch die geschilderte Behandlung sein Reduktionsvermögen fast vollständig verloren.

Vom 18/2—22/2 81 wurde der Harn der Versuchsperson, die sich möglichst gleichmässig ernährte, täglich gesammelt und auf sein Reduktionsvermögen geprüft. Dasselbe zeigte für die verschiedenen Tage nicht erhebliche Schwankungen. Am 22/2 wurden 10 gr. Sarkosin genommen. Der in den nächsten 24 Stunden entleerte Harn, klar, schwach sauer und von 1020 spec. Gewicht betrug 1540 Cc. Der Harn wurde in der vorhin geschilderten Weise verarbeitet. Das nach dem Entbleien erhaltene klare, fast farblose Filtrat wurde auf 80 Cc. eingeeengt. 20 Cc. davon reducirten 40 Cc. der 25% Fehling'schen Lösung unter starker Abscheidung von rothem und gelbem Kupferoxydul. 250 Cc. Harn vom vorhergehenden Normaltage in gleicher Weise behandelt, entfärbten 5—6 Cc. der gleichen Fehling'schen Lösung. In dem Sarkosinharn musste also eine gewisse Menge Methylhydantoin vorhanden sein.

Um über die quantitativen Verhältnisse Aufschluss zu erhalten, wurde zu 250 Cc. normalen Harns 0,5 gr. Methylhydantoin hinzugesetzt und diese Mischung in gleicher Weise wie vorhin behandelt. Die am Schluss der Operation erhaltenen 20 Cc. der Lösung reducirten ca. 45 Cc. Fehling'scher Mischung. Die gesammten 1540 Cc. Harn des Sarkosintages reducirten 160 Cc. Bringt man davon 30 Cc. für den Harn als solchen in Rechnung, so bleiben noch 130 Cc. für das Methylhydantoin. Das würde da auf 0,5 gr. Methylhydantoin sich 40 Cc. Fehling'scher Mischung ergaben, ca. 1,6 gr. Methylhydantoin in dem Sarkosinharn entsprechen. Die so ermittelten Zahlen sind jedoch nur als annähernde Werthe zu betrachten, da beim Methylhydantoin die Endreduktion nur ungenau zu bestimmen ist.

Der Sarkosinversuch wurde am 22/3 81 an derselben Person wiederholt. Es wurden wieder 10 gr. Sarkosin genommen. Der in den nächsten 24 Stunden entleerte Harn betrug 1350 Cc. Bei der Verarbeitung desselben wurde insofern von dem früher geschilderten Verfahren abgewichen, als der Harn sofort mit basischem Bleiacetat ausgefällt, entbleit, eingedampft und nun erst mit Alkohol und Aether

aufgenommen wurde. Nachdem der Aether abdestillirt und der alkoholische Rückstand auf ein kleines Volumen eingengt worden war, erfolgte bei der Behandlung mit Chlorzinklösung kaum eine Abscheidung von Kreatinin. Trotzdem war das frühere Verfahren vorzuziehen. Bei dem diesmal beobachteten gelang es weniger gut, die Farbstoffe des Harns auszuschliessen. Selbst als noch nachträglich Thierkohle hinzugefügt und erwärmt wurde, gelang dies nur unvollkommen. Ein Theil der reducirten Fehling'schen Mischung ist unzweifelhaft auf die Anwesenheit von Farbstoffen zu beziehen. In der That reducirte auch der gesammte Sarkosinharn diesmal 240 Cc. Fehling'scher Mischung, was unter Zugrundelegung der im früheren Versuch angewendeten Rechnung 2,6 gr. Methylhydantoin entsprechen würde. Doch haftet wegen des eben erörterten Umstandes dieser Zahl eine noch grössere Unsicherheit an, wie im ersten Versuch.

Da wir uns den Vorgang so denken müssen, dass ein Theil des Sarkosins im Organismus in Methylhydantoinensäure und diese erst durch H_2O -Abspaltung in Methylhydantoin übergeht, so wären zur weiteren Verfolgung des Gegenstandes zunächst Versuche mit Methylhydantoinensäure selbst anzustellen. Diese Versuche bleiben für später nachzuholen.

Schon Baumann und von Mering hatten (a. a. O.) gefunden, dass der Harn nach Sarkosingenuss deutliche Isonitritreaktion gebe, jedoch den Schluss, dass das Sarkosin zur Bildung einer Aminbase Anlass gebe, nicht mit Sicherheit ziehen können, da sie auch mit normalem Harn dieselbe Reaktion, wenn auch scheinbar schwächer erhielten. Salkowski¹⁾ konnte in seinen Versuchen an Hunden dieselbe Reaktion deutlich beim Sarkosinharn constatiren, während sie beim normalen Harn zu fehlen schien (das Thier war mit Brod und Milch gefüttert.) Ein Versuch, den danach vermutheten Methylharnstoff quantitativ zu bestimmen, scheiterte. Der mit Salpetersäure auskrystallisirte Harnstoff des Sarkosinharns wurde durch Glühen mit Natronkalk in Ammoniak übergeführt, dieses mit Platinchlorid gefällt und der

¹⁾ Diese Zeitschrift Bd. IV, S. 111 ff.

erhaltene Platinsalmiak mit chromsaurem Blei und vorgelegtem Kupfer verbrannt, um so den Kohlenstoffgehalt zu bestimmen. Der Harnstoff des Sarkosintages gab nach dieser Bestimmung allerdings etwas CO_2 , aber auch der normale Harnstoff in gleicher Weise behandelt, war nicht frei davon und die Differenz zu Gunsten des Sarkosintages war zu klein, so dass die Methode den gewünschten Aufschluss nicht gab. Immerhin ging jedoch aus den qualitativen Proben hervor, dass in der That an den Sarkosintagen eine grössere Menge einer primären Aminbase im Harn ausgeschieden würde, als an den Normaltagen.

Ich selbst¹⁾ habe im vorigen Jahr den Nachweis geführt, dass nach Kreatingenuss im Organismus Methylharnstoff gebildet wird. Es ist von vornherein zu erwarten, dass das Sarkosin, d. h. die Methyldamidoessigsäure sich in dieser Hinsicht ähnlich verhält, wie die Methylguanidinessigsäure auch mit Rücksicht auf die eben erwähnten Angaben von Baumann und v. Mering und von Salkowski ist es wohl als gesichert zu betrachten, dass ein geringer Theil des dem Organismus einverleibten Sarkosins in Form von Methylharnstoff ausgeschieden wird.

Es sei mir an dieser Stelle gestattet, mit einigen Bemerkungen auf die Kritik einzugehen, die Salkowski²⁾ seinem Referat über meine eben citirte Arbeit angehängt hat. Er sagt von mir: «meine Versuche machten wohl die Bildung von Methylharnstoff sehr wahrscheinlich, ohne sie jedoch zu beweisen; ich sei in diesem Nachweis um Nichts weiter gegangen als er selbst früher; es seien ganz genau dieselben Versuchsergebnisse. Die Differenz liege also nicht in den Versuchsergebnissen, sondern in der verschiedenen Anschauung über ihre Beweiskraft.» Ich glaube jedoch, dass auch meine thatsächlichen Ermittlungen einigermassen von denen des Referenten differiren. Seine qualitativen Versuche ergeben lediglich die Anwesenheit einer primären Aminbase im Harn, ohne über deren Natur etwas auszusagen, eine Thatsache

¹⁾ Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. IV, S. 237.

²⁾ Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1881, Bd. XIX, S. 5.

übrigens, die, wie oben angegeben ist, schon Baumann und von Mering festgestellt haben. Weiter fand Salkowski auf demselben Wege, dass nach Sarkosinfütterung die Menge der Aminbase zuzunehmen scheine. Die quantitativen Versuche aber, durch die jene primäre Aminbase als substituierter Harnstoff charakterisirt werden sollte, sind nach des Verfassers eigenen Worten wegen der kleinen Differenzen, die sie gegenüber den Normaltagen ergaben, von geringem Werth. Dann leiden aber diese Versuche auch an einer kleinen Unvollkommenheit. Salkowski gewann den Harnstoff des Sarkosinharns als salpetersauren Harnstoff, dessen Krystalle durch Glühen mit Natronkalk in Ammoniak umgewandelt wurden. Dasselbe wurde dann als Platinsalz gefällt und dessen etwa vorhandener C-Gehalt in der früher angegebenen Weise ermittelt. Aus der so gefundenen C-Menge sollte auf die Menge des substituirten Ammoniaks, resp. Harnstoffs geschlossen werden. Nun krystallisiren aber bei Anwesenheit von Sarkosin oder Methylhydantoin diese Substanzen mit dem Harnstoff zugleich aus, von dem sie schwer zu trennen sind. Salkowski sagt von einer solchen Trennung nichts. Waren aber den salpetersauren Harnstoffkrystallen kleine Mengen von Sarkosin oder Methylhydantoin beigemischt, so mussten diese beim Glühen mit Natronkalk ebenfalls substituirtes Ammoniak geben.

Was meine eigenen Versuche angeht, so zeigten sie zunächst, dass die Isonitrilreaktion des Harns von zwei primären Aminbasen herrühren könne, einer im Schlösing'schen Apparat austreibbaren und einer nicht austreibbaren. Dass die letztere ein substituierter Harnstoff sei, wurde durch die Versuche mit Kreatinfütterung in hohem Masse wahrscheinlich gemacht. Es schien mir selbst wünschenswerth, den Methylharnstoff direkt darzustellen, leider fehlt es uns hierzu an einer brauchbaren Methode. Nach dem Angeführten darf ich wohl die Sentenz Salkowski's, dass die Differenz zwischen uns nicht in dem Versuchsergebnissen, sondern in der verschiedenen Anschauung über ihre Beweiskraft liege, als gar zu streng bezeichnen.

Unsere bisherigen Kenntnisse über das Schicksal des Sarkosins im Organismus würden sich also dahin zusammenfassen lassen: Die bei Weitem grösste Menge wird unverändert wieder ausgeschieden, ein geringer Theil, etwa $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{6}$ wird in die entsprechende Uramidosäure oder vielmehr deren Anhydrid umgewandelt und ein, wie es scheint, minimaler Bruchtheil wird zu Methylharnstoff oxydirt.

Berlin, den 23. April 1881.