

Ueber die flüchtigen Säuren des Pferdeharns und das Verhalten der flüchtigen Fettsäuren im Organismus.

Von

Dr. C. Schotten.

Assistent an der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.

(Der Redaktion zugegangen am 2. April 1883).

Vor mehr als 30 Jahren untersuchte Städeler¹⁾ die flüchtigen Bestandtheile des Kuhharns und fand darin ein indifferentes stickstoffhaltiges Oel, Phenol, Kresol und von Säuren die folgenden: Eine ölige, im Geruch der Valeriansäure gleichende, von der Zusammensetzung $C_7H_{12}O_2$, der er den Namen Damalursäure gab, eine andere ölige Säure, deren Barytsalz 27,46 bis 27,85% Baryt enthielt und welche er Damolsäure nannte, und ferner Säuren, welche mehr als 40% Baryt enthielten und von denen er es unentschieden lässt, ob sie Valeriansäure oder Buttersäure oder eine noch unbekannte Säure enthielten.

Butliginsky²⁾ wies in dem saurem Destillate des Kuhharns ausser Phenol Essigsäure und Ameisensäure nach und spricht seine Verwunderung darüber aus, dass diese Säuren von Städeler ausser Acht gelassen wurden.

Städeler untersuchte auch die flüchtigen Bestandtheile des Pferdeharns und kam zu dem Resultate, dass sie dieselben seien, wie die des Kuhharns und auch in derselben Menge im Harn enthalten. Bei der Untersuchung des Kuh-

¹⁾ Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 77, S. 17.

²⁾ Hoppe-Seyler: Medicinisch-chemische Untersuchungen S. 240.

harns verfuhr Städeler folgendermassen: 80 Pfund Morgenharn wurden mit Kalkhydrat vermischt, aufgeköcht, von einem Niederschlag abgessen und auf etwa $\frac{1}{2}$ eingedampft. Die alkalische Lösung wurde mit Salzsäure stark angesäuert, nach 12 stündigem Stehen von der ausgeschiedenen Hippursäure getrennt und der Destillation unterworfen. Nachdem das Destillat mit Kalilauge stark alkalisch gemacht war, wurde von Neuem destillirt. Jetzt ging nur das indifferente, stickstoffhaltige nach Rosmarin- und Origanumöl riechende Produkt über, während Phenole und Säuren in der alkalischen Lösung blieben.

Die alkoholische Lösung wurde, um die bei der ersten Destillation übergegangene Salzsäure und Benzoësäure zurückzuhalten, nur mit so viel Schwefelsäure versetzt, als nöthig war, um $\frac{5}{6}$ des angewendeten Kalihydrats zu neutralisiren und von Neuem der Destillation unterworfen. Das Destillat wurde mit Natriumcarbonat übersättigt, die Phenole mit Aether ausgeschüttelt und die Natronlösung nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure wiederum destillirt. Das ölige nach Valeriansäure riechende, zum Theil in Wasser lösliche Destillat wurde mit Bariumcarbonat gekocht und die Lösung der Barytsalze zur Krystallisation verdampft. Hierbei schied sich zuerst das 27,4—27,8% Baryt enthaltende Salz aus, dann setzten sich Krystallisationen ab, welche 39,18 bis 44,46% Baryt enthielten. Eine Krystallisation, und zwar die fünfte, wurde zur Darstellung eines Silbersalzes benutzt. Die Analyse dieses Silbersalzes, wie der Umstand, dass die meisten Krystallisationen etwas über 39% Baryt enthielten, bewogen Städeler zu der Annahme, dass der Harn in der Damalursäure eine Säure enthalte, welche sich von der Oenanth- oder Heptylsäure durch den Mindergehalt von zwei Atomen Wasserstoff unterscheidet, also zu der Annahme einer ungesättigten Fettsäure.

Um die Damol- und Damalursäure näher kennen zu lernen, unternahm ich eine Untersuchung der flüchtigen Produkte des Pferdeharns; ich will indess gleich an dieser Stelle bemerken, dass mir die Auffindung der beschriebenen Säuren

nicht gelungen ist. Dagegen fand ich unter den flüchtigen Säuren des Pferdeharns Ameisensäure, Essigsäure, Fettsäuren mit höherem Kohlenstoffgehalt, welche ich nicht isolirte, von denen ich aber nach der Analyse der Silbersalze behaupten kann, dass sie bis zu Säuren mit mindestens acht Kohlenstoffatomen hinaufgehen, und die durch Zersetzung der Hippursäure entstandene Benzoësäure.

Zur Gewinnung dieser Säuren verfuhr ich in der Weise, dass ich ganz frischen Pferdeharn (ca. 50 Liter) nach starkem Ansäuern mit Schwefelsäure unter Durchleiten eines Stromes von Wasserdampf destillirte, so zwar, dass ich von 1 Liter Harn mindestens auch 1 Liter Flüssigkeit abdestillirte. Das Destillat, auf dessen Oberfläche sich auch das von Städeler beschriebene indifferente Oel zeigte, wurde nach Zusatz von überschüssigem kohlensauren Natron eingedampft und der Rückstand nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure von Neuem unter Durchleiten von Wasserdampf der Destillation unterworfen. Das Destillat wurde mit kohlensaurem Natron neutralisirt, zur Entfernung der Phenole wiederholt mit Aether ausgeschüttelt, wieder mit Schwefelsäure angesäuert und destillirt.

Was nun übrigging, wurde mit Baryt übersättigt, und, nachdem der überschüssige Baryt durch Einleiten von Kohlensäure entfernt war, bis zur Krystallisation eingedampft. Eine weitere Quantität der flüchtigen Säuren in Form der Natronsalze verdanke ich der Freundlichkeit des Herrn Prof. Baumann, welcher dieselben bei Gelegenheit der Darstellung der Phenole aus dem Pferdeharn¹⁾ gewonnen hatte. Auch diese Salze wurden in der angegebenen Weise in die Barytsalze verwandelt und mit der übrigen Menge vereinigt.

Nach mehrtägigem Stehen der Barytlösung über Schwefelsäure krystallisirte ein Salz aus (0,352 gr.), welches 38,79% Barium enthielt. Beim Versetzen der concentrirten Salzlösung mit einer Mineralsäure schied sich Benzoësäure krystallinisch aus. Zugleich machte sich aber der Geruch nach höheren Fettsäuren bemerklich.

¹⁾ Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. IX, S. 1389
Zeitschrift für physiologische Chemie VII.

Eine zweite Krystallisation (0,2639) verhielt sich bei Säurezusatz ebenso. Dieselbe enthielt 8% Krystallwasser. Sie wurde zusammen mit einem Rest der ersten in das Silbersalz verwandelt. Das letztere enthielt 50,52% Silber. Nun verlangt aber benzoösaurer Baryt 8,6% Krystallwasser und 36,15% Barium; benzoösaures Silber aber 47,16% Silber. Aus den angegebenen Daten geht also hervor, dass das analysirte Salz ausser Benzoösäure Säuren mit niedrigerem Molekulargewicht enthalten musste. Um diese fetten Säuren von der Benzoösäure zu trennen, wurde nun folgender Weg eingeschlagen, von dessen Brauchbarkeit ich mich zuvor durch einen Versuch überzeugt hatte. Die Mutterlaugen der Barytsalze wurden nach dem Uebersättigen mit Schwefelsäure von Neuem der Destillation unterworfen und das wässrige Destillat 2mal mit einer geringer Menge Aether ausgeschüttelt, die vereinigten ätherischen Auszüge wieder mit Wasser durchgeschüttelt. In dem Aether hatte ich nur die ganze Menge der Benzoösäure und diejenigen Fettsäuren, welche sich in Wasser nur schwierig lösen, in der wässrigen Lösung aber die niederen Fettsäuren, frei von Benzoösäure. Diese niederen Fettsäuren wurden wieder in die Barytsalze verwandelt und die concentrirte Salzlösung zur Krystallisation hingestellt.

Nach mehreren Wochen hatten sich grosse Krystalle ausgeschieden, welche, wie mir Herr Bärwald, dem ich dieselben zur Untersuchung übergeben hatte, freundlichst mittheilt, dem monosymmetrischen System anzugehören scheinen. Zu einer genauen krystallographischen Untersuchung waren dieselben leider nicht geeignet.

Die Analyse dieser Krystalle ergab 4,19% Krystallwasser, durch Trocknen bei 140° bis zum constanten Gewicht bestimmt, und 53,48% Barium, als schwefelsaurer Baryt bestimmt und für wasserfreies Salz berechnet. Die Krystalle enthielten Ameisensäure, welche an ihrem Verhalten zu Silber- und Quecksilberlösungen unzweideutig erkannt wurde. Da nun der ameisensaure Baryt 60,35%, der essigsäure 53,72% Barium enthält, so lag in den Krystallen ein Doppel-

salz vor, welches Ameisensäure, Essigsäure und höhere Fettsäuren enthielt, welche letztere sich übrigens auch durch den Geruch zu erkennen gaben. Dergleichen Doppelsalze mit verschiedenen Fettsäuren hat Fitz dargestellt und in den Berichten der deutschen chemischen Gesellschaft Bd. XIII, S. 1315 und ausführlicher in Gröth's [Zeitschrift für Krystallographie] beschrieben.

Die Menge dieser Krystalle betrug über 3 Gramm. Die Mutterlauge derselben wurden durch Fällen mit Silbernitrat in Silbersalze verwandelt und die letzteren durch 2maliges Umkrystallisiren aus heissem Wasser gereinigt. Beim Kochen der wässerigen Lösung zeigte es sich, dass auch die Mutterlauge noch reich an Ameisensäure waren, indem ein grosser Theil des Silbers reducirt wurde. Das durch Umkrystallisiren gereinigte, vollkommen weisse Salz (ca. 3 gr.) ergab bei der Analyse folgende Werthe, denen ich die für essigsaures Silber berechneten an die Seite stelle:

Gefunden:			Berechnet
1.	2.	3.	für $C_2H_3O_2Ag$
14,85	—	—	C = 14,37
2,02	—	—	H = 1,80
64,29	64,45	64,26	Ag = 64,67

Aus dem zu hoch gefundenen Werth des Kohlenstoffs und dem zu niedrig gefundenen des Silbers geht hervor, dass dem essigsauren Salz geringe Mengen eines Salzes beigemengt waren, dessen Säure mehr als zwei Kohlenstoffatome enthielt. Also auch die Mutterlauge des oben beschriebenen, gut krystallisirten Barytsalzes enthielten, wie dieses selbst, Ameisensäure, Essigsäure und Fettsäuren mit mehr als zwei Kohlenstoffatomen.

Ich komme nun zu den Säuren, welche der wässerigen Lösung durch Aether entzogen wurden, und in welchen bereits Benzoësäure nachgewiesen worden war. Nach Verdunsten des Aethers blieb eine krystallinische, aber nicht trockene, sondern sich etwas schmierig anfühlende, intensiv nach höheren Fettsäuren, wie Capryl- oder Caprinsäure, riechende Masse (6,41 gr.) Dieselbe wurde wieder mit Aether

aufgenommen und die ätherische Lösung mit Wasser durchgeschüttelt. Die wässrige Lösung wurde mit Barythydrat neutralisirt und das Barytsalz durch Fällen mit Silbernitrat in das Silbersalz verwandelt. Das letztere enthielt, einmal aus Wasser umkrystallisirt, 46,18% Silber.

Nunmehr wurde auch die im Aether verbliebene Säure in das Silbersalz verwandelt. Nach zweimaligem Umkrystallisiren aus heissem Wasser zeigte dasselbe folgende Zusammensetzung, welcher ich diejenige des benzoësauren Silbers an die Seite setze:

	Gefunden:			Berechnet für benzoë-, Silber.
	1.	2.	3.	
C =	37,29	37,22	—	C = 36,68
H =	2,67	2,81	—	H = 2,18
Ag =	—	46,18	45,97	Ag = 47,16

Wenn sich die Anwesenheit von Fettsäuren neben Benzoësäure in dem in Wasser nicht oder schwer löslichen Säureantheil durch den Geruch kenntlich gemacht hatte, so geht aus den mitgetheilten Analysen hervor, dass unter den betreffenden Fettsäuren eine oder mehrere sein müssen, welche mehr Kohlenstoff enthalten, als die Benzoësäure, also mindestens 8 Atome, vielleicht Capryl- oder Caprinsäure, welche von Goup-Besanez u. A. auch im Schweiss und im Blute vermuthet.

Was nun die von Städeler aus dem Pferde- und Kuhharn gewonnenen und mit den Namen Damol- und Damalursäure belegten Säuren betrifft, so ist es nach meinen Versuchsergebnissen mehr als wahrscheinlich, dass die Damolsäure, deren Barytsalz aus dem Gemenge der Barytsalze zuerst auskrystallisirte und 27,4—27,8% Baryt enthielt, ein Gemisch jener kohlenstoffreichen Fettsäuren gewesen ist. Die Barytsalze der kohlenstoffreichen Fettsäuren zeichnen sich durch ihre Schwerlöslichkeit in Wasser aus. So lösen 100 Th. Wasser bei 20° nur 0,6 Th. caprylsauren Baryt und noch weniger vom caprinsauren. Allerdings müssten diese Fettsäuren mindestens bis zu einer Säure mit 13 Kohlenstoffatomen hinaufreichen, welche 27,2% Baryt verlangt.

Ebenso leicht ist die Damalursäure zu erklären, für welche Städeler nach der Analyse einiger Barytsalze und eines Silbersalzes die Formel $C_7H_{12}O_2$ aufstellte. Diese Säure ist gewiss nichts anderes gewesen, als ein Gemisch der verschiedensten Fettsäuren, vielleicht herab bis zur Ameisensäure, mit Benzoësäure. Denn dass in einem sauren Destillat des Pferdeharns, sowohl Fettsäuren bis herab zur Ameisensäure, als auch Benzoësäure enthalten sind, habe ich bestimmt nachgewiesen. Und wenn ich auch zugebe, dass in den von Städeler untersuchten Säuren nicht so viel Benzoësäure gewesen ist, als in den von mir untersuchten, da ich die Hippursäure nicht vor der Destillation ausschied, so ist doch klar, dass auch Städeler die Benzoësäure nicht vollständig aus dem Destillat entfernen konnte. Denn beim Ausfällen der Hippursäure durch Salzsäure aus eingedampftem Harn bleibt doch bekanntlich immer ein Theil derselben in Lösung. Dies gibt ja auch Städeler zu und um die Benzoësäure zu entfernen, setzte er zu der alkalischen Lösung der Säuren nur so viel Schwefelsäure als $\frac{5}{6}$ des angewendeten Alkalis entsprach. Auf diese Weise hat er aber, wie mir Jeder zugeben wird, vor Allem Ameisensäure und Essigsäure zurückgehalten, welche stärkere Säuren sind als Benzoësäure, indem sie die letztere aus einer Lösung ihres Alkalisalzes ausfällen. Abgesehen davon war seine Annahme, dass die Benzoësäure unter den Säuren des Destillats weniger als $\frac{1}{5}$ ausmacht, eine ganz willkürliche. Ein Gehalt der Fettsäuren an Benzoësäure, wenn derselbe auch nur 10—20% beträgt, würde aber genügen, um den Wasserstoffgehalt des Silbersalzes so weit herabzudrücken, wie ihn Städeler fand.

Nach allem dem scheint mir kein Grund vorzuliegen, unter den flüchtigen Säuren des Pferdeharns ungesättigte Fettsäuren anzunehmen, und es wäre wohl das Richtige, wenn die Namen Damol- und Damalursäure wieder aus den Lehrbüchern verschwänden.

Dass auch der normale Harn der Fleischfresser, wie der der Pflanzenfresser, flüchtige Fettsäuren enthält, ist

leicht nachzuweisen, wenn man Harn vom Menschen oder vom Hunde mit Schwefelsäure ansäuert und der Destillation unterwirft. Thudichum¹⁾ wies in frischem Menschenharn mit Bestimmtheit Ameisensäure und Essigsäure nach, Buligin²⁾ (loc. cit.) Ameisensäure, Salkowski³⁾ Propionsäure. Alle Forscher sind der Ansicht, dass auch höhere Fettsäuren im Harn enthalten sind und in der That macht der Geruch des Destillats die Anwesenheit von Buttersäure oder Valeriansäure wahrscheinlich. Ich habe einige Bestimmungen ausgeführt um zu ermitteln, erstens, wie viel flüchtige Fettsäuren der normale Hundeharn ungefähr enthält, dann, wie sich die verschiedenen Fettsäuren im Bezug auf ihre Beständigkeit im Organismus unterscheiden. Zu dem Ende verfuhr ich in der Weise, dass ich den mit Schwefelsäure angesäuerten Harn unter Durchleiten eines Stroms von Wasserdampf destillirte. Von $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ Liter Harn destillirte ich immer 1 Liter Flüssigkeit ab. Das Destillat wurde mit Barytwasser alkalisch gemacht, überschüssiger Baryt durch Kohlensäure entfernt, und in einem aliquoten Theil der abgemessenen Lösung des Barytsalzes der Bariumgehalt durch Fällen mit Schwefelsäure bestimmt. Eine Probe, welche ich mit einer genau abgewogenen Menge isobuttersauren Natriums anstellte, ergab, dass ich auf dem angegebenen Wege 87% der angewendeten Säure wieder erhielt. Das Destillat wurde jedesmal mit Silber auf Salzsäure geprüft. Entstand auf Zusatz von Silber mehr als eine Trübung, so wurde eine Chlorbestimmung ausgeführt und die dem Chlor entsprechende Menge Baryt in Abzug gebracht. Diese Bestimmung war indessen nur in zwei Fällen nöthig. So fand ich in dem Destillat von normalem frischem Hundeharn von zwei Tagen einmal 0,884 gr. BaSO_4 , ein anderes Mal 1,034 gr. Dies ergibt durchschnittlich pro Tag 0,479 gr. BaSO_4 , entsprechend 0,246 gr. Essigsäure, welche jedenfalls den grössten Theil der flüchtigen Säuren ausmacht. Es versteht sich von selbst, dass der gefundene Werth nur ein Minimalwerth ist.

¹⁾ Journal of the chemical Society, N. S., T. VIII, p. 400.

²⁾ Pflüger's Archiv, Bd. II, S. 363.

Ich habe dann die Säuren von der Capronsäure bis herab zur Ameisensäure in Quantitäten von 10 bis 20 gr. pro Tag in Form ihrer Natronsalze verfüttert und bin zu dem Resultate gekommen, dass nach Fütterung mit Capronsäure, Valeriansäure und den beiden Buttersäuren die Menge der flüchtigen Fettsäuren im Harn nur ganz wenig vermehrt ist. Eine entschiedene Vermehrung war aber nach Fütterung von Essigsäure und in noch höherem Grade von Ameisensäure zu beobachten. Nach Eingabe von 25 gr. essigsäuren Natrons erhielt ich 3,08 gr. BaSO_4 , entsprechend 1,6 gr. Essigsäure. Dieser Versuch wurde indess vor Beendigung der Ausscheidung abgebrochen. In der Lösung war übrigens auch Ameisensäure nachweisbar. Nach Eingabe von 20 gr. ameisensäuren Natrons erhielt ich aus dem Destillat 9,26 gr. BaSO_4 , entsprechend 3,65 gr. Ameisensäure, oder 26 % der eingegebenen Menge. Die Ameisensäure wurde durch besondere Versuche nachgewiesen. Der Harn war nach Fütterung der Natronsalze der höheren Fettsäuren stark alkalisch und brauste auf Zusatz von Säure hoch auf. Nach Fütterung mit Essig- und Ameisensäure war dies nicht in dem Grade der Fall. Diese beiden Säuren erweisen sich also im Organismus beständiger, als die kohlenstoffreicheren, vollkommen im Einklang mit den Beobachtungen, dass die flüchtigen Säuren des normalen Harns vorwiegend Essigsäure und Ameisensäure sind.