

Weitere Beiträge zum Verhalten des Sarkosins im thierischen Organismus.

Von

Dr. J. Schiffer.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Laboratoriums zu Berlin.)
(Der Redaktion zugegangen am 26. April 1883.)

Es liegen ziemlich zahlreiche Versuche vor über das Schicksal substituierter Benzoësäuren im Organismus, dagegen ist die analoge Frage, ob ausser dem Glycocoll noch andere Amidosäuren die Bildung homologer Hippursäuren im Körper veranlassen, wenig bearbeitet worden. Arth. Hoffmann¹⁾ hat in dem Laboratorium von Schmiedeberg defibrinirtes Hundeblood mit Alanin (Amidopropionsäure) und Benzoësäure versetzt und diese Mischung sehr häufig durch eine überlebende Hundeniere geleitet. Die aus dem Ureter abgelaufene Flüssigkeit, sowie Blut und Niere zusammen verarbeitet, ergaben eine geringe Menge einer von der Hippursäure anscheinend verschiedenen Säure, deren Natur jedoch nicht näher festgestellt wurde. Ein ähnlicher mit Leucin (Amidocaprionsäure) angestellter Versuch ergab nur normale Hippursäure. Herr Dr. Schotten hat vor mehreren Jahren, wie ich aus mündlicher Mittheilung weiss, Leucin und Benzoësäure an Thiere verfüttert, jedoch danach im Harn nur normale Hippursäure gefunden. Endlich gibt A. Destrem²⁾ an, dass er beim Erhitzen von Leucin und Benzoësäure auf

¹⁾ Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Bl. VII, S. 233.

²⁾ Bulletin de la Société chimique de Paris, T. XXX, p. 481.

200° C. eine der Hippursäure homologe Säure neben Leucinimid erhalten habe. Eine direkte Aufforderung die hier angeregte Frage weiter zu verfolgen, lag in der interessanten Beobachtung Jaffe's¹⁾ der in den Excrementen von Hühnern, die mit Benzoësäure gefüttert waren, Ornithursäure fand, hervorgegangen aus der Synthese von Benzoësäure und Diamidovaleriansäure.

Was nun meine eigenen Versuche angeht, so ist über die Art der Ausführung wenig zu sagen. Sie wurden angestellt an Hund und Kaninchen, als Repräsentanten für Fleisch- und Pflanzenfresser und zwar in der Weise, dass an das Versuchsthier benzoësaures Natrium und Sarkosin verfüttert und der Harn der nächsten 24 Stunden verarbeitet wurde. Um die Bildung normaler Hippursäure möglichst zu verhüten, wurde erheblich weniger Benzoësäure gegeben, als den Äquivalenz-Verhältnissen entsprach. Die Entscheidung ob die ausgeschiedene Hippursäure die normale oder eine Sarkosin-Hippursäure sei, bot keine Schwierigkeit, denn jene = $C_9H_9NO_3$ enthält 60,3% C, diese = $C_{10}H_{11}NO_3$ aber 62,17% C, d. i. eine Differenz von fast 2%, so dass die Elementaranalyse die gestellte Frage klar beantworten musste. Dann blieb noch die Bestimmung des Schmelzpunktes und eventuell der Krystallform um die Sache zu entscheiden. Alles Weitere ergeben die nachstehend in aller Kürze mitgetheilten beiden Versuchsprotokolle.

I. Ein mittelgrosser Hund erhielt am 22./3 1883 mit seinem Futter 6,0 gr. salzsaures Sarkosin und etwas später 4,0 gr. benzoësaures Natrium. Der Harn der nächsten 24 Stunden wurde gesammelt, mit starker Salzsäure angesäuert, mit Alkohol und Aether gut ausgeschüttelt, der Aether-Alkohol im Scheidetrichter vom Harn getrennt, bis auf einen geringen Rest abdestillirt, dieser durch Aufkochen mit Thierkohle entfärbt, filtrirt und zum Krystallisiren hingestellt. Es schieden sich reichliche, fast farblose, prismatische Krystall-

¹⁾ Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. X, S. 1925 und Bd. XI, S. 406.

nadeln aus, die ganz wie Hippursäure aussahen. Der Schmelzpunkt wurde bei 187° gefunden. Die Elementaranalyse ergab für C und H folgende Zahlen:

Substanz = 0,3030.

	Gefunden:	Berechnet für gewöhl. Hippursäure.
C	= 0,1825 = 60,23%	= 60,30%
H	= 0,0161 = 5,33 «	= 5,03 «

Das gibt also eine so nahe Uebereinstimmung der Werthe für C und H, dass wir es ohne Zweifel mit gewöhnlicher Hippursäure zu thun haben; für Sarkosin-Hippursäure würden gefordert:

$$\begin{aligned} \text{C} &= 62,17\% \\ \text{H} &= 5,7 \text{ «} \end{aligned}$$

Dazu kommt dann noch die Uebereinstimmung des Schmelzpunktes.

II. Einem Kaninchen wurden 3,0 gr. Sarkosin und 2,0 gr. benzoësaures Natrium am 23./3 1883 per Schlundsonde beigebracht und der Harn der nächsten 24 Stunden wie oben verarbeitet. Es schieden sich sehr schöne, reichliche Krystalle aus, ganz vom Aussehen der Hippursäure.

Die Elementaranalyse ergab:

Substanz = 0,2326.

	Gefunden:	Berechnet wie oben:
C	= 0,1400 = 60,19%	= 60,30%
H	= 0,0123 = 5,28 «	= 5,03 «

Also auch hier eine fast vollständige Uebereinstimmung der gefundenen Werthe für C und H mit den für gewöhnliche Hippursäure berechneten. Die Bestimmung des Schmelzpunktes ergab denselben bei 187° C. Aus den mitgetheilten Versuchen folgt also mit voller Sicherheit, dass Benzoësäure und Sarkosin (Methylglycocoll) im Organismus des Hundes und des Kaninchens nur gewöhnliche Hippursäure bilden, nicht etwa eine Sarkosinhippursäure. Unter den substituirtten Amidosäuren schien aber für meine Versuche das Sarkosin deshalb ganz besonders geeignet zu sein, weil es den Organismus zum grossen Theil unverändert passiert.

Nur ungern sehe ich mich genöthigt, dieser kleinen Mittheilung ein Paar Worte der Abwehr anzuhängen.

Seitdem ich in diesen Blättern vor mehreren Jahren meine erste kleine Mittheilung: «Ueber Vorkommen und Entstehung von Methylamin und Methylharnstoff im Harn», Bd. IV, S. 237 u. ff. veröffentlicht habe, sehe ich mich in eine ebenso zähe als unerquickliche Polemik mit E. Salkowski verwickelt, auf die ich nur widerstrebend eingegangen bin. Auch in meiner letzten Arbeit, «das Schicksal des Sarkosins im Organismus» betreffend¹⁾ findet Salkowski Anlass zu Recriminationen.

Ich hatte am Schluss dieser Arbeit gesagt: «Unsere Kenntnisse über das Schicksal des Sarkosins im Organismus würden sich also dahin zusammenfassen lassen: Die bei Weitem grösste Menge wird unverändert 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». Salkowski beschwert sich nun darüber, dass ich «seine Versuche, die den Uebergang eines ansehnlichen Theiles des Sarkosins in Harnstoff zeigen», nicht erwähnt habe. Ich könnte erwidern, dass ich es in meiner Arbeit lediglich mit den Verhältnissen beim Menschen zu thun hatte, für den noch Niemand den Uebergang von Sarkosin in Harnstoff bewiesen hat, jedoch hatte ich auch den eigenen Angaben Salkowski's gegenüber wesentliche Bedenken.

Salkowski hat seine Versuche bei Hunden und Kaninchen angestellt²⁾, und den Harn meist nach der von ihm modificirten Bunsen'schen Methode verarbeitet. Am Hunde sind mit Rücksicht auf unsere Frage zwei Versuchsreihen durchgeführt. In der einen erhielt das Thier 22,0 gr. Sarkosin, dessen N-Gehalt 7,4 gr. Harnstoff entspricht. Nun schied das Thier an dem Sarkosin- und dem darauf folgenden Tage zusammen 12,27 gr. Harnstoff aus, dagegen an

¹⁾ Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. V, S. 266.

²⁾ Ibid., Bd. IV, S. 113 u. ff.

den zwei vorhergehenden Tagen 10,92 gr. Harnstoff; das ergibt zu Gunsten der Sarkosintage eine Differenz von 1,35 gr. Harnstoff. Diese entsprechen etwa 4,5 gr. Sarkosin; es fehlen also ca. 17,5 gr. Sarkosin. Dabei ist zu bedenken, dass in jenen 1,35 gr. Harnstoff das Gewicht für den Methylharnstoff mit enthalten ist. Solchen Zahlen gegenüber kann man doch nicht behaupten, dass ein «ansehnlicher Theil des Sarkosins» in Harnstoff übergeht oder wenn man es doch behauptet, nicht verlangen, dass Andere ohne Weiteres daran glauben.

Kaum günstigere Resultate für die Anschauung Salkowski's gibt die zweite Versuchsreihe am Hunde. Verfüttert wurden 25,2 gr. Sarkosin, entsprechend 8,48 gr. Harnstoff. Dagegen betrüge die Harnstoff-Differenz zu Gunsten der beiden Sarkosintage im Vergleich mit den beiden vorhergehenden Tagen im Ganzen 3,0 gr. (dort 14,03 gr. hier 11,03 gr. Harnstoff in 48 Stunden), wenn man annehmen könnte, dass der gesammte Ueberschuss an kohlen saurem Barium in den Sarkosintagen auf Harnstoffvermehrung zurückzuführen sei. Das geht aber bekanntlich nicht an, da ja auch Methylhydantoin und Methylharnstoff gebildet werden, die bei der Bunsen'schen Bestimmung auch ihrerseits CO₂ liefern. Es bleibt demnach nach Salkowski's eigenen Zahlen wenig Raum für Harnstoff-Bildung aus verfüttertem Sarkosin.

Günstigere Zahlen für seine Anschauungen gewinnt Salkowski beim Kaninchen. Doch ich will die Geduld meiner Leser nicht weiter auf die Probe stellen mit Aufzählung meiner Bedenken auch gegen diese Zahlen. Für Dritte haben ja nicht diese Bedenken Interesse, sondern die Frage ob es zutreffend sei, dass irgend ein Thier das Sarkosin zu gewöhnlichem Harnstoff oxydire und darüber kann, den positiven Angaben von Salkowski gegenüber nur die Experimentalkritik entscheiden. Gerade deshalb aber weil Salkowski seine Versuche an Kaninchen für am meisten beweisend hält, machte ich meine Controlversuche am nämlichen Thier.

Das Versuchsthier erhielt 60 gr. Hafer, 20 gr. Kohl und etwas Wasser für 24 Stunden, wobei es sein Körpergewicht nahezu behauptete. Der Urin wurde für Perioden von 24 Stunden gesammelt; fast ausnahmslos musste er aus der Blase ausgedrückt werden, da das Thier fast nie spontan etwas entleerte. Die 24 stündige Harnmenge wurde stets auf ein Volumen von 200 cc. gebracht. Die Harnstoffbestimmung geschah nach der Bunsen'schen Methode. Des kleineren Fehlers und der bequemeren Rechnung wegen wurden stets 20 cc. Mischung, 10 cc. Harn und 10 cc. alkalische Chlorbariumlösung in's Rohr eingeschlossen. Der Baryt wurde als schwefelsaurer bestimmt. Alles Weitere ergibt sich aus der nachstehenden Tabelle.

Datum.	I. Gewicht des Kaninchens.	II. Ba SO ₄ für 10 cc. Harn.	III. Harnstoff ¹⁾ für 24 Stunden. Von 12–12 Uhr.	
10. März.	2380 gr.	0,335	1,725	—
11. «	2370 «	0,474	2,44	—
12. «	2385 «	0,451	2,32	—
13. «	2370 «	0,560	2,88	7,0 gr. Sarkosin.
14. «	2300 «	0,610	3,14	3,0 gr. Sarkosin.
15. «	2320 «	0,572	2,94	—

Um stärkere Diarrhoen zu vermeiden, die bei Kaninchen nach grösseren Sarkosingaben leicht eintreten, wurden mit dem Sarkosin zugleich 0,02–0,03 gr. Opium gegeben. Trotzdem trat am 13. ein geringer Durchfall ein, der das Gewicht des Thieres etwas herabsetzte, aber den Versuch nicht weiter störte. Auf die zweite kleinere Sarkosingabe vom 14. folgte kein Durchfall.

Ueber die Zahlen der Tabelle selbst bleibt wenig zu sagen. Lassen wir den 1. Tag (den 10./3) als Uebergangs-

¹⁾ Ich betone ausdrücklich, dass die Zahlen dieser Columne nicht etwa den wahren Harnstoffgehalt bezeichnen, sondern nur von der Fiction ausgehend, dass das gesammte SO₄Ba auf Harnstoffzersetzung zurückzuführen sei.

tag ausser Betracht, so ergibt sich, dass an den beiden folgenden Tagen — den 11. und 12. — zusammen 4,76 gr. Harnstoff ausgeschieden wurden, oder pro Tag durchschnittlich 2,38 gr. Harnstoff. Auf die beiden Sarkosintage entfallen pro Tag 3,01 gr. oder zusammen 6,02 gr. Harnstoff. Das gibt eine Differenz zu Gunsten der Sarkosintage im Vergleich zu den beiden vorangehenden Tagen von im Ganzen 1,26 gr. Harnstoff, während den verfütterten 10 gr. Sarkosin 3,36 gr. also fast das Dreifache entsprechen würde. Rechnet man aber — was wohl kaum zulässig ist, da das Sarkosin stets vor Beginn der 24stündigen Periode gegeben wurde — auch den 15. zu den Sarkosintagen, so erhält man für die drei Tage 8,96 gr. Harnstoff, also gegen drei Normaltage = 7,14 gr. ($3 \times 2,38$) ein Plus von zusammen 1,82 gr. Harnstoff. Auch diese Rechnung ergäbe noch immer ein Deficit von fast der halben Sarkosinmenge, die wohl unverändert ausgeschieden worden ist.

Nun sind aber wie bereits erwähnt die Harnstoffzahlen in der 3. Columne nur fictive, gewonnen unter der Voraussetzung, dass das gesammte kohlen saure Barium bei den Bunsen'schen Bestimmungen von Harnstoff herrühre. Diese Voraussetzung ist aber unzulässig, denn es ist schon früher nachgewiesen, dass ein nicht unbeträchtlicher Theil des Sarkosins im thierischen Organismus in Methylhydantoin und ein geringerer in Methylharnstoff übergeht. Auch diese beiden Substanzen geben bei der Bunsen'schen Bestimmung $BaCO_3$ bzw. $BaSO_4$, und die Werthe dafür sind in den Zahlen der 2. und 3. Columne der obigen Tabelle mit enthalten. Bringt man diese Werthe in Abzug, so bleibt für eine Harnstoffvermehrung unter dem Einfluss des Sarkosins kaum etwas übrig.

Ich habe noch an anderen Kaninchen denselben Versuch durchgeführt, jedoch mit ganz ähnlichem Erfolg. Ich verzichte daher darauf, diese Versuche ausführlich mit den tabellarischen Belägen hier anzuführen, sondern begnüge mich mit der einfachen Erwähnung.

Gegenüber der leichten Ausführung der Bunsen'schen Bestimmungen, gegenüber den zweifellosen Resultaten, die sie mir ergaben, fühle ich mich nicht veranlasst auf die weiteren Versuche Salkowski's, die die Harnstoffbildung aus Sarkosin beweisen sollten, näher einzugehen. Mir lag vor Allem daran, die Berechtigung meines schon früher gezogenen Schlusses: «dass der grösste Theil des Sarkosins den Körper unverändert passire, ein geringerer in Methylhydantoin und ein minimaler in Methylharnstoff übergehe», thatsächlich nachzuweisen. Auf weitere Anfechtungen Salkowski's a. a. O. ist es nicht meine Absicht zu erwiedern, wie ich überhaupt meinerseits diese ganze Polemik für geschlossen erkläre.

Berlin, im April 1883.