

Zur Kenntniss der Kynurensäure.

Von

Dr. P. Solomin

aus Omsk.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 6. Juli 1897.)

Seitdem von Capaldi¹⁾ eine bequem auszuführende und genaue quantitative Bestimmungsmethode der Kynurensäure angegeben ist, sind wir in der Lage, mit grösserer Aussicht auf Erfolg an das Studium dieses interessanten Stoffwechselproduktes heranzugehen. Ich habe mich bemüht, folgende Fragen zu beantworten:

1. Wie verhalten sich Kynurensäure und Harnsäure im Hundeharn zu einander, zu den Alloxurbasen und zum Gesamtstickstoff?
2. Vermag der Organismus des Hundes aus Isatin Kynurensäure zu bilden?
3. Vermag derselbe aus Tyrosin Kynurensäure zu bilden?
4. Wie verhält sich in den Körper eingeführte Kynurensäure?

Die Angaben über das Vorkommen von Harnsäure im Hundeharn sind widersprechend. In der Litteratur findet sich wiederholt die Bemerkung, dass die Kynurensäure diese Säure ganz oder zum Theil vertritt. Liebig²⁾ vermisste die Harnsäure im Hundeharn. Eckhardt³⁾ gab an, dass der Niederschlag, welcher auf Zusatz von Salzsäure auftritt, zum grössten Theil aus Kynurensäure besteht, aber auch Spuren von Harnsäure enthält. Voit und Riederer⁴⁾ konnten in

1) Diese Zeitschr. Bd. 23, S. 92.

2) Annal. d. Chem. u. Pharm., Bd. 86, S. 125.

3) Ebenda Bd. 97, S. 358.

4) Zeitschr. f. Biolog., Bd. 1, S. 315.

diesem Niederschlag mit Hülfe der Murexidreaction durchaus nicht immer Harnsäure nachweisen. Naunyn und Riess¹⁾ erklären den negativen Befund von Voit und Riederer dadurch, dass ein Gemisch von Harnsäure mit selbst kleinen Mengen Kynurensäure häufig keine Murexidreaction gibt: sie fanden, dass der Niederschlag, der Krystallform nach zu urtheilen, meistens zum grössten Theil aus Harnsäure bestand; die letztere liess sich fast constant nach Entfernung der Kynurensäure durch eine unzweifelhafte Murexidreaction nachweisen. Auch Stadthagen²⁾ erwähnt, dass im Harn seines Versuchshundes Harnsäure und Kynurensäure vorkamen. Angaben über quantitative Bestimmungen beider Säuren nebeneinander finden sich in der Litteratur nicht. Im Folgenden theile ich eine Versuchsreihe mit, in der fortlaufend im Harn eines im Stickstoffgleichgewicht befindlichen Hundes Gesamtstickstoff, Kynurensäure und Harnsäure bestimmt wurden.

Der Hund, ein kleiner, weisser Terrier, wog 9 kg. Das Futter bestand aus 400 gr. gehacktem Pferdefleisch, 250 cem. Milch, 500 cem. Wasser und 10 gr. Kochsalz und wurde in Form einer dünnen Suppe täglich in zwei Portionen um 9 und um 5 Uhr gegeben. Aus dem Käfig floss der Harn vollständig in eine unterstehende Schale ab, täglich zu derselben Zeit wurde der Hund catheterisirt und der so gewonnene Harn mit dem, welcher sich in der Schale angesammelt hatte, vereinigt. Um die Zahl der Analysen etwas zu beschränken und für die einzelnen Bestimmungen grössere Quantitäten verwenden zu können, sammelte ich in der Regel den Harn von 2 mal 24 Stunden. Der Gesamtstickstoff wurde nach Kjeldahl bestimmt, die Harnsäure nach Ludwig-Salkowski isolirt, gewogen und nach Kjeldahl verbrannt, die Kynurensäure nach Capaldi³⁾ bestimmt. Für die Bestimmung der Harnsäure kamen je 200 cem.

1) Arch. f. Anat. u. Physiol. 1869, S. 381.

2) Virchow's Archiv, Bd. 109, S. 418.

3) Die Zuverlässigkeit dieser Methode ist von Capaldi nachgewiesen worden. Ich selbst fand in einem Versuch von 0,210 gr. Kynurensäure, die in Ammoniak gelöst, zu 480 cem. Harn hinzugefügt waren 0,2079 gr. = 99% wieder.

für die der Kynurensäure je 250 ccm. Harn zur Verwendung. In allen Fällen wurden Doppelanalysen ausgeführt, sie stimmten fast ausnahmslos sehr gut überein. Die in der Tabelle aufgeführten Zahlen stellen Mittelwerthe dar. In den Harnsäureanalysen stimmen die Resultate der Wägung mit den aus den gefundenen Ammoniakwerthen berechneten Harnsäuremengen überein: eine Verunreinigung der Harnsäure mit Kynurensäure, wie sie von Stadthagen beobachtet worden ist, fand also nicht statt.

| | Körper- gewicht | Harnmenge | Täglich aus- geschiedener Gesamt- stickstoff | Täglich aus- geschiedene Kynuren- säure | Täglich aus- geschiedene Harn- säure |
|-------------|--------------------|-----------|--|---|--|
| | gr. | ccm. | gr. | gr. | gr. |
| 4. 1 | 8900 | 920 | 14,26 | 0,3198 | 0,1739 |
| 5. 1 | — | 1000 | 15,58 | 0,3779 | 0,1218 |
| 6. 1 | — | 950 | 15,00 | 0,3666 | 0,1094 |
| 7. 8. 1 | — | 1835 | 15,34 | 0,3387 | 0,0930 |
| 9. 10. 1 | — | 1820 | 15,15 | 0,3743 | 0,0980 |
| 11. 12. 1 | — | 1810 | 14,86 | 0,3398 | 0,0947 |
| 13. 14. 1 | — | 1940 | 15,10 | 0,2215 | 0,0897 |
| 15. 16. 1 | 8800 | 1870 | 15,08 | 0,2639 | 0,0868 |
| 17. 18. 1 | — | 1905 | 13,93 | 0,1800 | 0,0786 |
| 19. 20. 1 | — | 1990 | 18,37 | 0,2668 | 0,1236 |
| 21. 22. 1 | — | 1900 | 15,08 | 0,3119 | 0,1157 |
| 23. 24. 1 | 8870 | 1845 | 15,16 | 0,3315 | 0,1610 |
| 25. 26. 1 | — | 1715 | 13,96 | 0,1370 | 0,1104 |
| 27. 28. 1 | 8980 | 1840 | 13,69 | 0,2428 | 0,1189 |
| 29. 1 | — | 800 | 13,22 | 0,1940 | 0,1043 |
| 2. 3. III | 9340 | 1600 | 14,19 | 0,2565 | 0,1589 |
| 4. 5. III | — | 1700 | 13,97 | 0,2344 | 0,1288 |
| 6. 7. III | — | 1940 | 14,77 | 0,2566 | 0,1204 |
| 8. 9. III | — | 1900 | 14,79 | — | — |
| 10. 11. III | 9250 | 1800 | 14,22 | 0,1908 | 0,1229 |

Die täglich ausgeschiedenen Kynurensäuremengen schwanken ziemlich stark: dasselbe gilt von der Harnsäure, doch bewegen sich die Schwankungen nicht im Sinne einer gegenseitigen

Vertretung. Etwas anders erscheint die Sache, wenn man die Durchschnittswerthe mehrerer Perioden miteinander vergleicht. In den Tagen vom 4. bis 18. Januar befand sich der Käfig des Hundes in einem hellen, luftigen Raum neben dem Laboratorium, vom 19. bis 29. Januar in dem ziemlich dunkeln, schlecht ventilirten Keller. Diese Anordnung wurde getroffen, weil wir früher wiederholt die Beobachtung gemacht zu haben glaubten, dass die Hunde im Keller besonders viel Kynurensäure ausschieden. In unserm Falle fand sich aber keine Vermehrung, im Gegentheil eine kleine Verminderung der durchschnittlich täglich ausgeschiedenen Säure, welche mit einem kleinen Ansteigen der Harnsäure Hand in Hand geht. In der ersten Periode schied der Hund im Durchschnitt täglich 14,92 gr. Gesamtstickstoff, 0,309 gr. Kynurensäure und 0,1051 gr. Harnsäure aus, in der zweiten 14,91 gr. Gesamtstickstoff, 0,25 gr. Kynurensäure und 0,122 gr. Harnsäure. In einer dritten Periode vom 2. bis 11. März, während welcher der Käfig des Hundes wieder oben stand, wurden im Durchschnitt 14,39 gr. Gesamtstickstoff, 0,223 gr. Kynurensäure und 0,133 gr. Harnsäure geliefert. Es macht hier fast den Eindruck, als ob doch eine gewisse Beziehung zwischen Harnsäure und Kynurensäure stattfände. Vermuthlich ist es aber nur ein zufälliges Zusammentreffen. Was am meisten in die Augen fällt, ist die ausserordentlich geringe Menge der täglich ausgeschiedenen Harnsäure. Auf 133 gr. Gesamtstickstoff kommt nur 1 gr. Harnsäurestickstoff. Die Harnsäurequantität erscheint aber nur gering im Verhältniss zum Gesamtstickstoff, nicht im Verhältniss zum Körpergewicht. Auf 1 Kilo Gewicht kommt bei unserm Hund 0,01 gr. Harnsäure, ganz dasselbe ist im Durchschnitt beim Menschen der Fall. Da nicht so sehr der Eiweissgehalt der Nahrung die Harnsäureausscheidung beeinflusst, als vielmehr der Zerfall nucleinhaltiger Zellen, beziehungsweise der Nuclein-gehalt der Nahrung, so war unter Berücksichtigung der Grösse des Hundes und der Zusammensetzung der Nahrung ein höherer Harnsäuregehalt als der gefundene durchaus nicht zu erwarten. Von einer „Vertretung“ der Harnsäure durch Kynurensäure kann also keine Rede sein.

Was die Alloxurbasen betrifft, so sind regelmässige Bestimmungen derselben ausgeführt und stets sehr hohe Werthe erhalten worden. Ich benutzte das Verfahren von Krüger-Wulf. Da inzwischen von verschiedenen Seiten die Ungenauigkeit dieser Methode nachgewiesen ist, verlieren die Resultate ihren Werth. Zu den stickstoffhaltigen Stoffen, die nach Huppert¹⁾ ausser den Alloxurbasen in den Kupferniederschlag hineingehen, kommt beim Hundeharn noch die Kynurensäure hinzu: dieselbe lässt sich mit Leichtigkeit aus dem Niederschlag isoliren (Krystallform, Jaffé'sche Reaction).

Die Kynurensäure ist bekanntlich eine Oxychinolincarbonsäure. Um zu prüfen, ob Abkömmlinge des Chinolins im Organismus in Kynurensäure umgewandelt werden, haben Schmidt²⁾ und Rosenhain³⁾ verschiedene Chinolinderivate theils per os theils subcutan den Versuchsthiereu beigebracht: keine einzige dieser Substanzen erschien im Harn als Kynurensäure. Auch im Harn solcher Thiere, die normaler Weise keine Kynurensäure ausscheiden (Kaninchen), trat nach Eingabe dieser Körper keine Kynurensäure auf. Desgleichen fielen Versuche, in denen Skatol, Skatolcarbonsäure und andere Fäulnisprodukte des Eiweiss zugeführt wurden, negativ aus Rosenhain, Capaldi⁴⁾. Niggeler⁵⁾ glaubt nach Eingabe von 1 gr. Isatin in den Magen eines Hundes ein Ansteigen der Kynurensäureausscheidung beobachtet zu haben und schliesst auf einen Zusammenhang zwischen Isatin und Kynurensäure. Da quantitative Angaben nicht vorliegen, habe ich diesen Versuch wiederholt, aber mit völlig negativem Erfolg.

Hauser⁶⁾ prüfte die Frage, ob Tyrosin die Muttersubstanz

1) Diese Zeitschr., Bd. 22, S. 556.

2) Ueber das Verhalten einiger Chinolinderivate im Thierkörper mit Rücksicht auf die Bildung von Kynurensäure. Dissert. Königsberg 1884.

3) Beiträge zur Kenntniss der Kynurensäurebildung im Thierkörper. Dissert. Königsberg 1886.

4) Diese Zeitschr., Bd. 23, S. 87.

5) Arch. f. exper. Path. und Pharmak., Bd. 3, S. 70.

6) Ebenda, Bd. 36, S. 1.

der Kynurensäure sei, aber weder 2 gr. dieser Substanz per os noch 1 gr. intravenös einem kynurensäurefreien Hund beigebracht bewirkten das Auftreten dieser Säure in dem innerhalb 36 bzw. 24 Stunden nach der Zufuhr gelassenen Harn. Ein Versuch, den ich an meinem Versuchshund ausführte, hatte dasselbe negative Resultat. Vor der Eingabe von 2 gr. Tyrosin in den Magen schwankte die tägliche Kynurensäureausscheidung zwischen 0,1908 und 0,2605 gr. Am Versuchstag und den folgenden betrug sie 0,1614, 0,1591 u. s. w. Hauser hält für möglich, dass vielleicht doch Tyrosin in Kynurensäure übergegangen, aber eine vermehrte Ausscheidung nicht zur Beobachtung gekommen sei, weil Bildung und Zerstörung Hand in Hand gehen. Ganz von der Hand zu weisen ist diese Erklärung nicht, da, wie wir später sehen werden, ein grosser Theil der in den Magen eingeführten Kynurensäure vom Hunde zerstört wird.

Ueber das Schicksal der in den Organismus eingeführten Kynurensäure liegen schon Angaben von Schmidt und Hauser vor. Ersterer fand in dem Harn eines Kaninchens, dem 1 gr. Kynurensäure als Natronsalz in den Magen gebracht war, diese Säure wieder. Ueber die Quantität ist nichts gesagt. Hauser gab einem kynurensäurefreien Hund 0,5 gr. und einem andern 1,978 gr. in Soda gelöst in den Magen. Der erstere schied im Harn 0,181 gr. = 36,2 % wieder aus, der zweite im Harn 1,063 gr. und in den Faeces 0,052 gr. Von den resorbirten 1,926 gr. fanden sich also 55,2 % wieder. Ausserdem führte Hauser Versuche an sich selbst aus: er nahm innerhalb 15 Stunden in zwei Dosen 2,052 gr. Kynurensäure als Ammoniaksalz, in dem Harn fand sich eine kleine Quantität, die auf 0,1—0,15 gr. geschätzt wurde. In einem zweiten Versuch nahm er innerhalb 24 Stunden in drei Dosen 3,986 gr. in Sodalösung, im Harn liess sich keine Spur nachweisen. Auch in einem dritten Versuch, in dem er 2 gr. der Säure auf einmal zu sich nahm, waren Harn und Faeces vollkommen frei von Kynurensäure. Meine Versuche wurden ebenfalls an Kaninchen, Hund und Mensch angestellt. Der

eine der beiden Hunde schied keine Kynurensäure aus, der andere war das schon benutzte, noch im Stickstoffgleichgewicht befindliche Versuchsthier, dessen durchschnittliche Kynurensäuremenge bekannt war. Die Zufuhr der Säure geschah per os und subcutan und zwar als Natronsalz. Für die Bestimmung der Kynurensäure in den Faeces schlug ich folgendes Verfahren ein: sie wurden unter Zusatz von ein wenig Natronlauge auf dem Wasserbade wiederholt mit heissem Alkohol extrahirt, die alkoholischen Filtrate verdunstet, der Rückstand mit Wasser aufgenommen und mit 50% Barytmischung versetzt, das Filtrat auf kleines Volumen gebracht und mit 4% concentrirter Salzsäure gefällt. Die ausgeschiedene Kynurensäure wurde zum Zweck weiterer Reinigung in das Barytsalz verwandelt und dessen wässerige Lösung abermals mit Salzsäure versetzt. Es fiel jetzt reine Kynurensäure aus. Die Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

| | Gewicht Kilo | Art der Zufuhr | Es sind zugeführt worden als Natronsalz gr. | Es sind gefunden worden | | Es sind re- sorbiert worden **) gr. | Die durchschnittliche tägl. Ausscheidung beträgt gr. | Von der resorbierten Menge sind wieder aus- geschieden | |
|-----------|-----------------|----------------------|--|----------------------------|--------------------------------|--|--|--|-------|
| | | | | im Harn gr. | in den Faeces (*) gr. | | | in gr. | in % |
| Hund | 9 | subcut. | 2.0 | 2.0258 | 0 | 2.0 | 0.2620 | 1.7638 | 88.19 |
| Derselbe | 9 | subcut. | 1.0 | 1.2418 | 0 | 1.0 | 0.2620 | 0.9798 | 97.98 |
| Derselbe | 9 | per os | 1.0 | 0.3557 | nicht untersucht | | 0.2620 | | |
| Hund | 13 | subcut. | 0.6670 | 0.552 | 0 | 0.6670 | 0 | 0.552 | 82.76 |
| Derselbe | 13 | per os | 1.0 | 0.0855 | 0.1012 | 0.8988 | 0 | 0.0855 | 9.51 |
| Kaninchen | 1.7 | subcut. | 1.0 | 0.608 | 0 | 1.0 | 0 | 0.608 | 60.8 |
| Dasselbe | 1.7 | per os | 1.0 | 0.0958 | 0 | 1.0 | 0 | 0.0958 | 9.58 |
| Kaninchen | 1.84 | subcut. | 1.0 | 0.580 | 0 | 1.0 | 0 | 0.580 | 58.0 |
| Dasselbe | 1.84 | per os | 1.0 | 0.221 | 0 (***) | 1.0 | 0 | 0.221 | 22.1 |
| Mensch | 72 | subcut. | 0.961 | 0.6916 | 0 | 0.961 | 0 | 0.6916 | 72.0 |
| Derselbe | 72 | per os | 1.0 | 0 | 0.1575 | 0.8425 | 0 | 0 | 0 |
| Derselbe | 72 | per os | 2.643 | 0 | 0.4429 | 2.2001 | 0 | 0 | 0 |

* Es wurden stets die Faeces mehrerer Tage untersucht

***) Durch die Fäulnisbakterien wird die Kynurensäure nicht angegriffen. Die Differenz zwischen der eingeführten und der in den Faeces gefundenen Menge entspricht deshalb der resorbierten.

****) Ganz schwache, undeutliche Jaffé'sche Reaction.

Diese Resultate stimmen im Allgemeinen mit denen der früheren Untersucher überein. Bei der subcutanen Zufuhr der Kynurensäure erscheint sie zum Theil unverändert im Harn wieder: bei Menschen und Kaninchen, welche normaler Weise keine Kynurensäure ausscheiden, ist der Procentsatz der wiedergefundenen Säure ein kleinerer als beim Hund. Geschieht die Einführung in den Magen, so ist die Zerstörung beim Menschen eine vollständige, beim Hund und Kaninchen eine sehr viel erheblichere, als in den subcutanen Versuchen.

Auf Grund der von mir und andern erhaltenen Ergebnisse kann man die Vermuthung aussprechen, dass Menschen und Kaninchen vielleicht nicht deshalb keine Kynurensäure ausscheiden, weil sie keine bilden, sondern deshalb, weil sie die gebildete wieder zerstören.

Diese Untersuchung wurde auf Veranlassung und unter Leitung von Professor Thierfelder ausgeführt.