

Zur Ausscheidung der Ätherschwefelsäure und Glukuronsäure nach Eingabe aromatischer Substanzen.

Von
Dr. Felix Stern.

(Aus der städtischen Krankenanstalt in Kiel.
Dirigierender Arzt: Prof. Dr. Hoppe-Seyler.)
(Der Redaktion zugegangen am 18. Juli 1910.)

Während die Bindung der bei der Darmfäulnis entstehenden aromatischen Substanzen an Schwefelsäure und deren Vermehrung durch künstliche Zufuhr derartiger Substanzen schon von Baumann¹⁾ erkannt ist, auch die Mengenverhältnisse später mehrfach genau untersucht wurden, sind unsere Kenntnisse von der unter gleichen Umständen erfolgenden Glukuronsäureausscheidung noch relativ gering. Daß unter diesen Bedingungen überhaupt Glukuronsäure gebildet wird, besonders wenn die Schwefelsäure erschöpft ist, wurde zwar schon vor längerer Zeit von Külz und G. Hoppe-Seyler²⁾ nachgewiesen, welche nach Eingabe von Indol bzw. indoxylbildenden Substanzen starke Linksdrehung des Harns beobachteten; auch wurde später die Glukuronsäure als normales Stoffwechselprodukt mit der gleichen entgiftenden Funktion wie die Ätherschwefelsäure von P. Mayer und C. Neuberg³⁾ erkannt. Jedoch gestatteten die bisher üblichen Methoden der Glukuronsäureuntersuchung keine genaue quantitative Bestimmung, sondern lieferten immer nur Mindestwerte. Infolgedessen existieren auch noch verhältnismäßig wenige Mitteilungen über die Beziehungen, welche zwischen der Ätherschwefelsäure- und Glukuronsäureausscheidung im

¹⁾ E. Baumann, Diese Zeitschrift, Bd. I, S. 60 ff.

E. Baumann u. Herter, Diese Zeitschrift, Bd. I, S. 224.

²⁾ Külz, Archiv f. d. gesamte Physiologie, Bd. XXX, S. 487.

G. Hoppe-Seyler, Diese Zeitschrift, Bd. VII, S. 404.

³⁾ P. Mayer u. C. Neuberg, Diese Zeitschrift, Bd. XXIX, S. 526.

normalen Stoffwechsel und bei künstlicher Zufuhr aromatischer Substanzen herrschen.

Zu diesen gehören die Arbeiten von Bela v. Fenyvessy,¹⁾ welcher bei Untersuchungen an Kaninchen und Hunden fand, daß zwar schon bei kleinen Phenolmengen Glukuronsäure neben Ätherschwefelsäure ausgeschieden wird, eine wesentliche Vermehrung aber erst nach Erfüllung der SO_4 -Synthese stattfindet. Im Hunger ist die Glukuronsäuremenge nicht vermindert, durch Zufuhr von Traubenzucker wird sie nicht gesteigert. Ähnliche Angaben macht K. Lewin,²⁾ welcher Vermehrung der Glukuronsäureausscheidung durch Phenol und Indol fand, wenn die zur Bindung nötigen Ätherschwefelsäuremengen nicht mehr ausreichen.

P. Mayer³⁾ sah Vermehrung der an Phenol und Indoxyl gebundenen Glukuronsäure auf Kosten der Ätherschwefelsäure bei gleichzeitiger reichlicher Traubenzuckerzufuhr infolge gestörter Zuckeroxydation.

Weitere Kenntnisse in dieser Frage sind nur zu erwarten bei genauerer quantitativer Bestimmung der Glukuronsäure. Da wir die Möglichkeit dazu jetzt durch die von C. Tollens⁴⁾ ausgearbeitete Salzsäuredestillationsmethode, welche bei den bisher am Menschen angestellten Versuchen mit größter Wahrscheinlichkeit genaue Glukuronsäurewerte geliefert hat, besitzen, habe ich mit Benützung dieser Methode unter Leitung des Herrn Prof. Hoppe-Seyler am Kaninchen eine Reihe von Versuchen angestellt, welche die Beziehungen zwischen Ätherschwefelsäure- und Glukuronsäureausscheidung nach Eingabe aromatischer Substanzen darlegen sollen.

¹⁾ Fenyvessy, Zur Glukuronsäurefrage. Arch. intern. de pharmacologie. Bd. XII, S. 407.

Idem. Bedingungen der SO_4 -Synthese des Phenols und deren Verhalten zur Glukuronsäure. Magyar Orvod Archivum, Bd. VI.

²⁾ K. Lewin, Über die Bildung von Phenol und Indoxyl im intermediären Stoffwechsel und deren Beziehung zur Glukuronsäureausscheidung. Hofmeisters Beitr., Bd. I, S. 472.

³⁾ P. Mayer, Über Glukuronsäureausscheidung. Hofmeisters Beitr., Bd. II, S. 217.

⁴⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LXI, S. 95.

Die Methode der Glukuronsäurebestimmung ist in der oben zitierten Arbeit von Tollens so genau geschildert, daß auf nochmalige ausführliche Beschreibung füglich verzichtet werden kann. Ihre Grundprinzipien sind: Fällung des Harns durch Bleiessigammoniak, Zersetzung des Niederschlags durch HCl und gleichzeitige Destillation des dabei sich bildenden Furfuols, Fällung desselben durch Phloroglucin und Wägung des Furfuolphloroglucids. Die später sich als notwendig erweisende Korrektur der Phloroglucidwerte um je 13 mg.¹⁾ welche durch die Bildung geringer Furfuolmengen aus dem mitbenutzten Filtrierpapier bedingt wird, ist auch bei vorliegenden Untersuchungen berücksichtigt. Daß bei diesen Bestimmungen bedeutend höhere Glukuronsäurewerte als nach den älteren Untersuchungsmethoden gefunden wurden, sei nochmals hervorgehoben. Außerdem ist zu berücksichtigen, daß sich in der Bestimmung doch leicht kleine Ungenauigkeiten einstellen, welche besonders anscheinend bei der Destillation eintreten und kaum vermeidbar sind. Auch bei der Waschung des Phloroglucidniederschlags mit 150 ccm Wasser tritt zwar in den meisten Fällen, aber doch nicht immer völlige Befreiung vom Chlor ein, besonders wenn der Asbestfilter etwas zu dick war. Zu dünne Filter sind aber zu vermeiden, da das Filtrat sonst leicht trüb wird. Infolgedessen wies der stets mitangestellte Kontrollversuch häufig eine Differenz von 5—10% auf, auch in Fällen, in denen ein grober Fehler bei der Untersuchung der hätte berücksichtigt werden können, nicht offenbar war. Diese Differenz ist in den gefundenen Werten also stets in Rechnung zu stellen.

Bei den Versuchen ging ich im Anschluß an die Untersuchungen, welche vor längerer Zeit G. Hoppe-Seyler²⁾ angestellt hat, von der Orthonitrophenylpropionsäure aus, welche im Organismus durch einen Reduktionsprozeß in Indoxyl übergeführt wird. Diese Substanz erschien praktisch, da sie, wie schon in den oben erwähnten Versuchen festgestellt war, vom Kaninchen gut vertragen wird und auch in den von uns ver-

¹⁾ C. Tollens u. F. Stern, Diese Zeitschrift, Bd. LXIV. H. 1.

²⁾ G. Hoppe-Seyler, Diese Zeitschrift, Bd. VII.

wandten Mengen keine Glukosurie oder Albuminurie hervorruft, welche bei der Glukuronsäurebestimmung von störendem Einfluß gewesen wären.

Versuch I.

Es wurde zuerst einem ca. 4 kg schweren Kaninchen, das bei Kohlfütterung belassen war, 1,0 der Substanz, welche durch vorsichtigen Zusatz von Natriumcarbonat als Natriumsalz in Wasser gelöst war, mittels Schlundsonde gegeben.

Die folgende Tabelle zeigt die dabei eintretenden Veränderungen besonders der Schwefelsäureausscheidung.

| Tag | Gesamt- schwefel- säure in g. Als H_2SO_4 berechnet | a) Präfor- mierte Schwefel- säure | b) Äther- schwefel- säure | a : b | Furfurol- phloro- glucid- menge | Bemerkungen |
|-----|---|---|------------------------------------|-------|--|--|
| 1 | — | — | — | — | 0,0225 | Kohlkost |
| 2 | — | — | — | — | 0,0552 | |
| 3 | 1,143 | 1,068 | 0,175 | 6,1 | 0,136 | 1,0 Orthonitro- phenylpropion- säure |
| 4 | 0,934 | 0,897 | 0,037 | 24,2 | 0,045 | |
| 5 | 0,691 | 0,643 | 0,048 | 13,4 | 0,1200 | |
| 6 | 1,082 | 1,032 | 0,050 | 20,2 | 0,1010 | |

Aus der Tabelle geht die erhebliche Mehrausscheidung an Ätherschwefelsäure am Tage nach der Substanzeingabe deutlich hervor; dieselbe ist in dem Versuch schon nach 24 Stunden beendet. Da das Kaninchen größer war als das in den früheren von Hoppe-Seyler angestellten Versuchen benutzte, und mehr Gesamtschwefelsäure bildete, ist wohl auch die früher erzielte Minderung der Verhältnisziffer von präformierter zu gebundener Schwefelsäure bis auf 3,6 nicht ganz erreicht worden. Die Vermehrung der Ätherschwefelsäuremenge, welche sich in den früheren Versuchen auf 48 Stunden ausdehnte, ist quantitativ in dem jetzigen ungefähr die gleiche; sie beträgt, wenn wir als Durchschnittswert unter normalen Verhältnissen 0,045 g annehmen, 0,135 g.

Schwieriger gestaltet sich die Beurteilung der gleich-

zeitigen Glukuronsäureausscheidung. Da das Kaninchen mit Kohl gefüttert wurde, muß man annehmen, daß der Harn, wie schon C. Neuberg und Wohlgemuth¹⁾ dargelegt haben, die in der Nahrung enthaltenen Pentosen bezw. Pentosane teilweise wieder ausschied. Da diese Pentosen wohl, zum Teil wenigstens, auch in den Bleiessig-Ammoniakniederschlag mit übergangen, wird eine gewisse Menge des bei der Destillation entstandenen Furfurols auf diese zu beziehen sein. Es ist deshalb bei diesem Versuch absichtlich die Umrechnung des gebildeten Furfurolphloroglucids in Glukuronsäure unterblieben, da ohne weiteres nicht zu entscheiden ist, wieviel Furfurol von Pentosen und wieviel von Glukuronsäure her stammt.

Von einiger Bedeutung scheint trotzdem die erhebliche Steigerung der Phloroglucidmenge am 1. Tage nach der Eingabe der Orthonitrophenylpropiolsäure zu sein. Obwohl das Allgemeinbefinden des Kaninchens an diesem Tage kaum gestört war, auch auffällige Beeinträchtigung der Freßlust diesmal nicht gerade beobachtet wurde, dürfte das Tier wohl nicht an diesem Tage gerade so viel mehr Kohl als an den vorangehenden gefressen haben, daß dadurch die Steigerung nur auf Pentosen zu beziehen wäre.

Es hat also wohl sicher auch eine Steigerung der Glukuronsäureausscheidung stattgefunden, wenn auch ein eindeutiges Resultat bei Kohlfütterung nicht erzielt werden kann. Groß ist diese Vermehrung vielleicht nicht; denn auch einige Tage später unter normalen Bedingungen ist die Phloroglucidmenge fast so hoch wie am Tage nach der Eingabe der Substanz; doch wäre sie insofern wesentlich, als dann Steigerung der Glukuronsäurebildung eingetreten wäre, obwohl noch reichlich präformierte Schwefelsäure zur Bindung bereit war.

Versuch II.

Es wurde nun demselben Kaninchen, welches zunächst noch bei Kohlkost belassen wurde, 3 Tage hintereinander Orthonitrophenylpropiolsäure per os zugeführt. Dabei zeigten sich folgende Werte:

¹⁾ Diese Zeitschrift. Bd. XXXV. S. 41.

| Tag | Gesamt- schwefel- säure in g | a) Präfor- mierte Schwefel- säure | b) Äther- schwefel- säure | a : b | Furfurol- phloro- glucid- menge | Bemerkungen |
|-----|---------------------------------------|---|------------------------------------|-------|--|--|
| 1 | 0,562 | 0,468 | 0,094 | 5,0 | 0,0414 | 1,0 Orthonitro- phenylpropiol- säure Kohlkost |
| 2 | 1,547 | 1,467 | 0,080 | 18,3 | 0,1180 | desgl. |
| 3 | 0,925 | 0,810 | 0,115 | 7,0 | 0,1370 | |
| 4 | 1,034 | 0,996 | 0,038 | 26,2 | 0,0430 | |
| 5 | 0,765 | 0,721 | 0,044 | 16,3 | 0,0740(?) | |

Auch in diesem Versuche ist die Vermehrung der Ätherschwefelsäure an den Tagen, an welchen Orthonitrophenylpropiolsäure gegeben wurde, evident; sie ist ebenfalls schon in 24 Stunden beendet. Die Steigerung ist allerdings nicht so hoch wie bei dem ersten Versuche. Dies liegt vielleicht daran, daß ein größerer Teil der Substanz nicht resorbiert wurde. Man könnte ja auch an stärkere Heranziehung der Glukuronsäure denken, zumal besonders am zweiten und dritten Tage die Menge des Furfurolphloroglucids eine besonders hohe war. Es wird aber das Resultat dadurch sehr zweideutig, daß die Gesamtschwefelsäuremenge an den einzelnen Tagen — offenbar infolge verschieden starker Nahrungsaufnahme — eine sehr differente war, und daß die ungleiche Nahrungsaufnahme verschiedene Stärke etwaiger Pentosurie bedingte.

Die erhebliche Differenz in den Mengen der Gesamtschwefelsäure ist auch als Ursache dafür anzusehen, daß in der Proportion präformierte : gebundene Schwefelsäure große Unterschiede auch an den Tagen, an denen die gleiche Menge der Nitrophenylpropiolsäure gefüttert wurde, sich zeigten.

Erwähnenswert ist in Versuch I und II eine gewisse Konstanz der Ätherschwefelsäureausscheidung unter normalen Verhältnissen, da deren Mengen bei ein und demselben Tier nur zwischen 0,037 und 0,050 schwanken. Eyvin Bang¹⁾

¹⁾ Eyvin Bang, Fütterungsversuche mit Indol. Diese Zeitschrift, Bd. XXVII, S. 557 ff.

hat beim Hund unter normalen Bedingungen etwas stärkere Schwankungen festgestellt.

Versuch III.

Um nun die störende Pentosenbeimengung des Harns möglichst ausschließen zu können, wurde demselben Kaninchen die Substanz nach mehrtägiger Hungerperiode gegeben, drei Tage hindurch danach der Harn untersucht, während das Kaninchen weiter hungerte. Am vierten Tage bekam es wieder Kohl zu fressen. Da das Tier am Tage vor Einführung der Substanz außerordentlich wenig Urin hatte, war es leider nicht möglich gewesen, an diesem Tage eine Bestimmung vorzunehmen.

Bei diesem Versuch wurden folgende Werte erhalten:

| Tag | Gesamt- H ₂ SO ₄ | a) Präfor- mierte H ₂ SO ₄ | b) Äther- H ₂ SO ₄ | a : b | Furfurol- phloro- glucid | Glu- kuron- säure | Bemerkungen |
|-----|---|---|--|-------|--------------------------------|-------------------------|---|
| 1 | 0,558 | 0,436 | 0,122 | 3,5 | 0,03 | 0,09 | 1,0 Orthonitrophenyl- propionsäure nüchtern |
| 2 | 0,570 | 0,468 | 0,102 | 4,5 | 0,0075 | 0,0225 | " |
| 3 | 0,217 | 0,179 | 0,038 | 4,7 | 0,031 | 0,093 | " |
| 4 | 1,405 | 1,346 | 0,059 | 22,8 | 0,1215 | — | Kohlkost |

Da das Kaninchen während der Versuchsreihe hungerte, ist die geringere Gesamtschwefelsäuremenge ohne weiteres verständlich. Demgegenüber ist die Steigerung der Ätherschwefelsäureausscheidung nach Eingabe der Substanz, die in diesem Versuch 48 Stunden anhält, nicht vermindert. Wenn wir nämlich annehmen, daß am dritten Tage die Menge der gebundenen Schwefelsäure nicht mehr von der zugeführten Orthonitrophenylpropionsäure beeinflußt wurde, erhalten wir einen Wert, der dem in Versuch I bei gleichfalls einmaliger Substanzgabe ungefähr entspricht (+ 0,144).

Die gleichzeitige Bestimmung der Glukuronsäure fördert auch in diesem Versuch ein schwer zu deutendes Resultat. Wohl dürfen wir annehmen, daß in dieser längere Zeit dauernden Hungerperiode die Menge des berechneten Furfurolphloroglucids allein auf Glukuronsäure zu beziehen ist — Eiweiß und Trauben-

zucker enthielt der Harn nicht —, doch findet sich eine auffallende, schwer erklärliche Inkonstanz der Glukuronsäuremengen. Da nach dem Absinken am 2. Tag unerwartet wieder ein Anstieg bis zur Höhe des 1. Tages erfolgt, ist die Frage, ob durch die Substanzgabe auch die Glukuronsäure vermehrt ausgeschieden wurde, nicht klar entschieden. Aber auch dieses negative Resultat ist insofern nicht unwesentlich, als wir eine ähnliche Inkonstanz der Glukuronsäureausscheidung beim Kaninchen — im Gegensatz zu den Versuchen, die mit dieser Methode am Menschen ausgeführt sind — mehrfach beobachtet haben (s. u.).

Leicht verständlich ist die starke Vermehrung der Gesamtschwefelsäure am 4. Tag, an dem das Tier wieder Kost bekam, zumal das überhungerte Tier an diesem Tage mit großer Gier erhebliche Mengen fraß. Die gleichzeitig eintretende erhebliche Steigerung des Phloroglucidwertes dürfte hauptsächlich durch erneute Ausscheidung von Pentosanen bedingt sein.

Versuch IV.

Da in dem vorangehenden Versuch die Bestimmungen der Glukuronsäure kein ganz eindeutiges Ergebnis geliefert hatten, außerdem der Harn am Tage vor der Substanzgabe nicht hatte untersucht werden können, wurde einem Kaninchen unter den gleichen Bedingungen (Hungerzustand) noch einmal Orthophenylpropionsäure gegeben, und zwar in etwas größerer Dosis (1,5). Daß bei typischer Beeinflussung der Ätherschwefelsäureausscheidung wiederum auffallende Inkonstanz der Phloroglucidmenge sich zeigte, lehrt folgende Tabelle:

| Tag | Gesamt-schwefel-säure | a) Präfor-mierte Schwefel-säure | b) Äther-schwefel-säure | a : b | Furfurol-phloro-glucid | Gluku-ron-säure | Bemerkungen |
|-----|-----------------------|---------------------------------|-------------------------|-------|------------------------|-----------------|------------------------------------|
| 1 | 0,113 | 0,105 | 0,008 | 13,2 | 0 | 0 | Hunger |
| 2 | 0,417 | 0,349 | 0,068 | 5,1 | 0,037 | 0,1110 | 1,5 Orthonitro-phenylpropion-säure |
| 3 | 0,113 | 0,069 | 0,044 | 1,6 | 0,008 | 0,024 | |
| 4 | 0,275 | 0,270 | 0,005 | 54,0 | 0,0565 | 0,1695 | |

Bei diesem Kaninchen, welches etwas kleiner als das zuerst benutzte war und ebenfalls schon mehrere Tage vor der Substanzeingabe gehungert hatte, ist die Gesamtschwefelsäuremenge kleiner als in Versuch III, nimmt aber parallel dem Ansteigen der Ätherschwefelsäure am Tage nach der Eingabe zu. Auch die Menge der gepaarten Schwefelsäure ist bei dem Tier, bei dem offenbar nur noch wenig Fäulnisprozesse im Darm stattfanden, anfangs außerordentlich gering. Ihre Steigerung nach der Substanzgabe ist zwar nicht so hoch wie in Versuch III, aber doch ganz erheblich. Auch hier erstreckte sich die Wirkung der Orthonitrophenylpropiolsäure auf 48 Stunden, wie in dem vorhergehenden Hungerversuch, während in den beiden Versuchen mit Kohlfütterung die Einwirkung diesmal schon nach 24 Stunden erschöpft war.

Ebenfalls wohl als Folge sehr geringer Fäulnisprozesse ist das Fehlen einer wägbaren Glukuronsäureausscheidung am ersten Versuchstag anzusehen. Die an diesem Tage gewonnene Furfurolmenge war nämlich so gering, daß sie in Berücksichtigung des aus der Cellulose stammenden Furfurols dadurch vollkommen in Beschlag genommen wurde. Es ist zugleich ein Beweis dafür, daß der Harn — schon nach kurzem Hungern — pentosenfrei war. Daß dieser Mangel nicht etwa auf einer Unfähigkeit des Organismus, im Hungerzustand Glukuronsäure zu bilden, beruht — sei es nun, daß man ein Entstehen aus dem zweifellos noch nicht erschöpften Glykogenvorrat des Körpers oder aus dem Kohlenhydratrest der Eiweißstoffe annimmt —, geht aus der Tatsache hervor, daß am Tage nach Eingabe der Orthonitrophenylpropiolsäure prompt in erheblichen Mengen Glukuronsäure gebildet wird. Dies ist auch insofern wesentlich, als es wieder zur Bildung von Glukuronsäure kam, obwohl noch reichlich präformierte Schwefelsäure zur weiteren Paarung mit Indoxyl zur Verfügung stand (cf. Versuch I).

Wie in der Ätherschwefelsäureausscheidung besteht auch bezüglich der Glukuronsäureausscheidung zwischen Versuch III und IV ein vollkommener Parellelismus: Anstieg am 1. Tage nach Einführen der Substanz, Absinken am 2. Tage, erneuter

Anstieg am 3. Tage. Die Verhältnisse am 1. und 2. Tage sind eindeutig: worauf der erneute Anstieg am 3. Tage beruht, ist dunkel. Da das Kaninchen noch hungerte, ist erneute Pentosurie wohl auszuschließen, auch sonst war in beiden Malen keine Substanz nachzuweisen, welche eventuell in der Berechnung des Phloroglucids hätte eine Rolle spielen können. Infolgedessen kann angenommen werden, daß der Phloroglucidwert völlig auf Glukuronsäure bezogen werden muß. Es zeigt sich dann dieselbe, bis auf weiteres rätselhaft Inkonstanz, welche schon in Versuch III erwähnt worden ist.

Versuch V.

In der Absicht, die Wirkung der Orthonitrophenylpropionsäure unter natürlicheren Verhältnissen, als dies im Hungerzustand der Fall ist, nochmals zu studieren, dabei aber die in der Glukuronsäurebestimmung störende Pentosenbeimengung des Harns zu vermeiden, wurde die Substanz noch einmal gegeben, während das Kaninchen mit pentosenfreier Kost, Brot und Milch, gefüttert wurde. Die Milch wurde dem Tier zweimal täglich mittels Sonde eingeflößt, während es von dem Brot spontan fraß, allerdings sehr verschieden große Mengen.

Die Ergebnisse sind wieder tabellarisch zusammengestellt:

| Tag | Gesamt-schwefelsäure | a) Sulfat-schwefelsäure | b) Äther-schwefelsäure | a : b | Furfurol-phloroglucid | Glukuronsäure | Bemerkungen |
|-----|----------------------|-------------------------|------------------------|-------|-----------------------|---------------|----------------------------------|
| 1 | — | — | — | — | 0,0617 | 0,1852 | Brot — Milch |
| 2 | 0,332 | 0,315 | 0,017 | 18,5 | 0,0357 | 0,1072 | desgl. |
| 3 | 0,294 | 0,263 | 0,031 | 8,5 | 0,1480 | 0,4440 | 1,5 Orthonitrophenylpropionsäure |
| 4 | 0,346 | 0,325 | 0,021 | 15,5 | 0,1260 | 0,3780 | „ |
| 5 | 0,167 | 0,119 | 0,048 | 2,5 | 0,0585 | 0,1755 | „ |
| 6 | 0,182 | 0,168 | 0,014 | 12,0 | 0,054 | 0,162 | „ |

Diese Tabelle liefert uns nun gar keine eindeutigen Ergebnisse, weder bezüglich der Wirkung der Substanz auf die Ätherschwefelsäure- noch auf die Glukuronsäureausscheidung.

Die Ätherschwefelsäuremenge, die von vornherein gering war, wird durch die Eingabe der Substanz nur unbedeutend gesteigert; die Differenz zwischen den beiden Tagen vor und nach der Zufuhr beträgt nur 21 mg. Dabei war die Indoxylmenge am Tage nach der Substanzeingabe, wie aus dem starken Ausfall der Indoxylreaktionen hervorging, zweifellos gesteigert. Man denkt infolgedessen wieder an stärkere Bindung an Glukuronsäure, doch ist auch diese nicht mit Sicherheit nachzuweisen, da die auffallende und nicht erklärbare Steigerung der Phloroglucidmenge am Tage vor Eingabe der Orthonitrophenylpropionsäure das Resultat trübt.

Ich führe diesen Versuch hauptsächlich aus dem Grunde an, um zu zeigen, daß bei Untersuchungen über Ätherschwefelsäure- und Glukuronsäureausscheidung Brot—Milch—Fütterung nicht angebracht ist. Dies liegt wahrscheinlich hauptsächlich daran, daß die Kaninchen diese Kost, an die sie nicht gewöhnt sind, in sehr ungleichen Mengen genossen, während sie den Kohl gleichmäßig gern fraßen, und daß vielleicht auch abnorme Störungen in ihrem Verdauungstraktus entstanden. Daher ist die Resorption der eingeführten Orthonitrophenylpropionsäure wohl auch eine ungenügende gewesen.

Es dürfte sich demnach fernerhin empfehlen, in Versuchen, welche die Schwefelsäureausscheidung allein berücksichtigen, die Kaninchen bei der naturgemäßen Kohlkost zu belassen, dagegen bei gleichzeitiger Berücksichtigung der Glukuronsäure die Untersuchungen im Hungerzustand vorzunehmen.

Unter diesen Bedingungen wurden daher auch noch (an verschiedenen Kaninchen) eine Reihe von Versuchen angestellt, die den Einfluß der einfachen bei der Darmfäulnis sich bildenden aromatischen Substanzen studieren, besonders auch feststellen sollten, ob unter den einzelnen Substanzen eine verschieden starke Tendenz, sich in erheblicherem Maße mit Glukuronsäure als mit Schwefelsäure zu paaren, besteht. Es wurde den Kaninchen, die sämtlich schon 2—3 Tage vor Anstellung des Versuchs gehungert hatten, Indol, Phenol und Kresol gegeben, während Skatol, das im Handelswege schwieriger zu erlangen ist, nicht gegeben werden konnte.

Ich lasse zunächst das Ergebnis sämtlicher Versuche in Tabellenform folgen:

| Tag | Ge- samt- H ₂ SO ₄ | a) Präfor- mierte H ₂ SO ₄ | b) Ge- bundene H ₂ SO ₄ | a : b | Fur- furol- phloro- glucid | Gluku- ron- säure | Bemerkungen |
|-----|--|---|--|-------|-------------------------------------|-------------------------|-------------|
| 1 | 0,035 | 0,016 | 0,019 | 0,8 | 0 | 0 | Nüchtern |
| 2 | 0,384 | 0,293 | 0,091 | 3,2 | 0,078 | 0,234 | 0,3 Indol |
| 3 | 0,289 | 0,270 | 0,019 | 14,2 | 0,09 | 0,27 | " |

| Tag | Ge- samt- H ₂ SO ₄ | a) Präfor- mierte Schwefel- säure | b) Sulfat- schwe- fel- säure | a : b | Phloro- glucid | Gluku- ron- säure | Bemerkungen |
|-----|--|---|--|-------|-------------------|-------------------------|-------------|
| 1 | 0,315 | 0,237 | 0,078 | 3,0 | 0,101 | 0,303 | Hunger |
| 2 | 0,105 | 0,012 | 0,093 | 0,13 | 0,233 | 0,699 | 0,3 Phenol |
| 3 | 0,345 | 0,259 | 0,086 | 3,0 | 0,091 | 0,273 | " |
| 4 | — | — | — | — | 0,084 | 0,252 | " |

| Tag | Gesamt- schwefel- säure | a) Sulfat- schwefel- säure | b) Äther- schwefel- säure | a : b | Phloro- glucid | Gluku- ron- säure | Bemerkungen |
|-----|-------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-------|-------------------|-------------------------|-------------|
| 1 | 1,146 | 1,085 | 0,061 | 16,1 | 0,08 | 0,24 | Hunger |
| 2 | 0,412 | 0,268 | 0,144 | 1,2 | 0,0955 | 0,2865 | 0,3 Kresol |
| 3 | 0,286 | 0,224 | 0,062 | 3,6 | 0,1035 | 0,3105 | " |
| 4 | 0,254 | 0,220 | 0,034 | 6,5 | 0,136 | 0,408 | " |
| 5 | 0,268 ₂ | 0,133 | 0,135 | 1,0 | 0,256 | 0,768 | 0,3 Phenol |
| 6 | 0,192 | 0,131 | 0,041 | 3,2 | 0,0900 | 0,27 | " |

Aus den Ergebnissen geht erstens die starke Steigerung hervor, welche die Ätherschwefelsäureausscheidung besonders bei Zufuhr von Indol und Kresol erfährt.

Die Wirkung des Phenols ist eine etwas andere. Besonders Versuch VII zeigt, daß in geringem Maße die Ätherschwefelsäureausscheidung, in eklatanter Weise aber die Menge der Glukuronsäure zunimmt. Schon nach 24 Stunden ist diese Steigerung der Glukuronsäureausscheidung beendet. Von Wichtigkeit dabei ist allerdings die Tatsache, daß an dem Tage, an dem Phenol gegeben wurde, die Gesamtschwefelsäuremenge eine auffallend geringe war und infolgedessen kaum noch präformierte H_2SO_4 zur Bindung bereit stand. Ferner war schon eine sehr erhebliche Menge gebundener Schwefelsäure (0,078 statt 0,019 im vorangehenden Versuch) vorhanden, so daß ein größerer Teil der Schwefelsäure als sonst von aromatischen Substanzen in Beschlag genommen war.

Etwas anders liegen die Verhältnisse in Versuch VIII. Es handelte sich hier um ein sehr großes und gut genährtes Kaninchen, dessen Schwefelsäurebildung zu Beginn des Versuches trotz mehrtägigen Hungerns noch sehr groß war und nur langsam bei weiterem Hungern successive sank. Es wurde in diesem Falle zweifellos ein größerer Teil des resorbierten Phenols an Schwefelsäure gebunden; daneben aber trat, obwohl noch genügend freie Schwefelsäure vorhanden war, auch hier eine sehr erhebliche Steigerung der Glukuronsäureausscheidung ein, die ebenfalls nur 24 Stunden anhielt.

Weniger tritt die Glukuronsäurebildung nach Einfuhr von Indol und Kresol hervor. In Versuch VI enthielt zwar nach der Indolgabe der Harn in reichlicher Menge Glukuronsäure, während er vorher durch mehrtägiges Hungern (wie in Vers. IV) glukuronsäurefrei geworden war. Doch wird das Ergebnis dadurch auffallend, daß am zweiten Tage nach der Substanzgabe die Steigerung anhält, während die Ätherschwefelsäuremenge bereits zur Norm herabgesunken, die Ausscheidung des künstlich zugeführten Indols also wohl schon beendet war. Ob es sich da um eine regelmäßige Erscheinung, um eine durch den Reiz der eingeführten Substanz verursachte einige Zeit anhaltende überschüssige Bildung von Glukuronsäure handelt, müßten weitere Versuche lehren.

Noch weniger deutlich ist der Einfluß der Vergiftung auf

die Glukuronsäurebildung in dem Kresolversuch. Hier wie in Versuch VII wurde trotz Hungerns noch reichlich furfurolbildende Substanz ausgeschieden. Wenn auch nicht völlig ausgeschlossen werden kann, daß in diesen Fällen infolge vielleicht zu kurzer Hungerperiode noch Pentosane in geringer Menge ausgeschieden wurden und an der Furfurolbildung sich beteiligten, so würde auch in diesem Falle natürlich die Vermehrung der Glukuronsäure durch Phenol bei der hochgradigen Steigerung des Furfurolphloroglucids am entsprechenden Tage unzweifelhaft bleiben. Und ferner kann man die gesamte Furfurolmenge auch ungezwungen auf Glukuronsäure allein beziehen, da entsprechend der noch beträchtlichen Ätherschwefelsäureausscheidung anscheinend noch reichlich Fäulnisprozesse in dem langen Darmkanal des Kaninchens stattfanden.

Jedenfalls hat in dem Versuch das Kresol im Gegensatz zu der starken Ätherschwefelsäurevermehrung eine höchstens geringe Steigerung der Glukuronsäureausscheidung bedingt. Unklar ist dabei die langsame Mehrung der Phloroglucidmenge in den folgenden Tagen, welche erst nach der starken zweifellos durch Glukuronsäure hervorgerufenen Steigerung am Tage der Phenolfütterung wieder absinkt. Wir können nun, da der Harn frei von Eiweiß und Traubenzucker war und eine Steigerung der eventuell noch vorhandenen Pentosurie im Hungerzustand unglaublich erscheint, wohl annehmen, daß an sämtlichen Versuchstagen das Ansteigen der Furfurolmenge die Folge vermehrter Glukuronsäurebildung ist. Wir sehen dann dieselbe Inkonstanz, die wir schon mehrfach beim Kaninchen beobachtet haben.

Das Verhältnis der präformierten zur gepaarten Schwefelsäure ist zwar in allen Versuchen bestimmt worden, doch legen wir darauf weniger Wert als auf die absolute Steigerung der Ätherschwefelsäure, da sich zeigte, daß besonders im Hungerzustand und bei Brot-Milchfütterung die Menge der gebildeten Gesamtschwefelsäure in oft unberechenbarer Weise schwankt. Nur bei der naturgemäßen Kohlfütterung finden wir (cf. Versuch I) einigermaßen konstante und verwendbare Zahlen.

Beiläufig sei noch erwähnt, daß die Kaninchen die eingeführten Substanzen auch im Hungerzustand gut vertrugen.

Fassen wir jetzt unsere Ergebnisse zusammen, so sehen wir zunächst, daß entsprechend den Erwartungen sämtliche eingeführten Substanzen, sowohl die indoxylbildende Orthonitrophenylpropionsäure, als auch die einfachen aromatischen Substanzen Indol, Phenol und Kresol eine zum Teil beträchtliche Steigerung der Ätherschwefelsäureausscheidung zur Folge hatten.

Dieselbe ist nach Eingabe von Orthonitrophenylpropionsäure nicht immer ganz gleich hoch. Es liegt das wohl an der verschiedenen starken Resorption der Substanz im Verdauungskanal. Es besteht kein großer Unterschied, ob die Substanz bei Kohlfütterung oder im Hungerzustand gegeben wird, da beim Kaninchen auch unter letzteren Bedingungen noch längere Zeit hindurch genügend präformierte Schwefelsäure bereit steht.

In einem Versuch (III) ist die Menge der gebundenen Schwefelsäure nach Eingabe von 1,0 Nitrophenylpropionsäure mehr als doppelt ($2,3 \times$) so hoch wie in einem unter gleichen Bedingungen angestellten Versuch nach Zufuhr von 0,3 Indol. Man kann aber nicht sagen, daß 1,0 Orthonitrophenylpropionsäure etwa 0,7 Indol entspricht, da in letzterem Versuch anscheinend ein größerer Teil des Indols an Glukuronsäure gebunden wurde.

Die Glukuronsäurebestimmung durch Überführen in Furfurol macht größere Schwierigkeiten als bei Untersuchungen am Menschen. Bei Kohlfütterung wird das Resultat durch die Ausscheidung ebenfalls furfurolabspaltender Pentosane getrübt. Brot-Milchfütterung liefert ebenfalls ungleiche Werte. Da es nicht gelingt, die Pentosane von der Glukuronsäure zu trennen und die Menge des von Pentosen stammenden Furfurols sich ebenfalls nicht bestimmen läßt, werden die Untersuchungen am besten im Hungerzustand vorgenommen. Bisweilen gelingt es dann, neben starker Verminderung der Ätherschwefelsäureausscheidung die Glukuronsäurebildung völlig zu unterdrücken. Bei genügend langem Hungern dürfte dies vermutlich in allen Fällen zu erzielen sein. Es würde sich bei weiteren Untersuchungen empfehlen, stets vor Anstellung des Versuchs schon 8—10 Tage hindurch das Tier hungern zu lassen. Diese Maß-

nahme ist unbedenklich, da die Kaninchen besonders bei regelmäßiger Wasserzufuhr das Hungern sehr lange vertragen. Man vermeidet auf diese Weise am sichersten jede störende Pentosurie.

Auch nach dem völligen Verschwinden der Glukuronsäure tritt aber dieselbe in erheblichen Mengen im Harn wieder auf, wenn aromatische Substanzen dem Körper zugeführt werden. In einigen Versuchen kommt es zu reichlicher Bildung von Glukuronsäure, obwohl die präformierte Schwefelsäure noch lange nicht erschöpft ist. Dieses Verhalten beobachten wir zwar auch bei der Orthonitrophenylpropionsäure und dem Indol (Versuch IV und VI), besonders stark aber bei dem Phenol.

Wir kommen also hier zu etwas anderen Ergebnissen als Fenyvessy (l. c.), der ja die wesentliche Vermehrung der Glukuronsäureausscheidung durch Phenol erst nach Erschöpfung der freien Schwefelsäure eintreten sah. Es entspricht aber dieses Verhalten ähnlichen Beobachtungen, die kürzlich C. Tollens¹⁾ am Menschen gemacht hat. Auch dieser fand eine gewisse Prädilektion des Phenols für Glukuronsäure gegenüber andern aromatischen Substanzen, speziell Indol. In unseren Versuchen zeigt sich der Unterschied am deutlichsten zwischen Kresol und Phenol, da in derselben Versuchsreihe Kresolzufuhr eine nicht deutliche, Phenol eine bedeutende Steigerung der Glukuronsäure zur Folge hat.

Wohl infolge der starken Darmfäulnis des Kaninchens ist die Ätherschwefelsäureausscheidung im Verhältnis zur Größe der Tiere eine relativ sehr bedeutende. Ähnlich verhält sich allem Anschein nach die Glukuronsäure. Doch zeigt sich auch in Fällen, in denen man die gesamte Phloroglucidmenge auf Glukuronsäure beziehen kann, eine merkwürdige, ursächlich noch nicht geklärte Inkonstanz, die viel erheblicher ist, als es sich bei Untersuchungen am Menschen gezeigt hat.

Weitere Versuche mit Eingabe größerer Mengen von aromatischen Substanzen haben wir unterlassen, da nach den bisherigen Erfahrungen (cf. u. a. Fenyvessy, K. Lewin usw.)

¹⁾ C. Tollens, Diese Zeitschrift, Bd. LXVII, S. 138.

wohl zur Genüge feststeht, daß nach Vollendung der SO_4 -Synthese nur noch Glukuronsäure zur weiteren Paarung herangezogen wird.

Aus unseren Untersuchungen geht hervor, daß bisweilen nach Eingabe aromatischer Substanzen auch schon beträchtliche Steigerung der Glukuronsäuremengen erfolgt, wenn die präformierte Schwefelsäure noch nicht erschöpft ist.

Die Vermehrung der Ätherschwefelsäure auf die Zufuhr oder Bildung von aromatischen Substanzen, besonders Indol und Kresol, tritt prompter ein als die der Glukuronsäure.

Die Menge der Ätherschwefelsäure gibt ein sichereres Maß für die Ausscheidung von aromatischen Substanzen, wenn es sich nicht um sehr große Mengen von solchen handelt, da sie nicht so unberechenbaren Schwankungen wie die Glukuronsäure unterliegt. Will man den Gesamtwert der Ausscheidung aromatischer Substanzen im Urin beurteilen, so muß man aber auch die Glukuronsäure neben der Ätherschwefelsäure bestimmen und die Summe beider Werte berücksichtigen, besonders wenn sehr viel aromatische Stoffe im Urin den Körper verlassen.

Zum Schluß möchte ich noch Herrn Prof. Hoppe-Seyler für seine mannigfachen ständigen Anregungen und die lebenswürdige Unterstützung bei den Untersuchungen meinen ergebensten Dank sagen.
