

# Über die Aufspaltung des Benzolrings im Tierkörper.

## II. Mitteilung.

### Verhalten der Muconsäure und des Benzols im Leberdurchblutungsversuch.

Von

Marie Hensel und Otto Riesser.

(Aus dem Institut f. mediz. Chemie und experimentelle Pharmakologie zu Königsberg. Pr.)  
(Der Redaktion zugegangen am 22. August 1913.)

Das Studium der Frage, wie sich die Aufspaltung des Benzolrings im Tierkörper vollzieht, nahm seinen Ausgang von den Beobachtungen über das Schicksal der aromatischen Bausteine des Eiweißes, des Tyrosins und des Phenylalanins. Durch die Arbeiten von Wolkow und Baumann<sup>1)</sup> sowie von Falta und Langstein<sup>2)</sup> wissen wir, daß diese Amidosäuren beim Alkaptonuriker als Homogentisinsäure ausgeschieden werden, und H. Embden<sup>3)</sup> stellte fest, daß die Homogentisinsäure vom normalen menschlichen Organismus unter Aufspaltung des Benzolrings vollständig verbrannt wird. Für die wichtige Frage, inwieweit die Homogentisinsäure als ein normales Zwischenprodukt des Abbaus der aromatischen Amidosäuren zu gelten hat und wie sich ihr weiterer Abbau vollzieht, wurden die Untersuchungen von G. Embden, Salomon und Schmidt<sup>4)</sup> von Bedeutung. Diese Forscher wiesen nach, daß ebenso wie Tyrosin und Phenylalanin auch die Homogentisinsäure im Durchblutungsversuch an der überlebenden Leber zu Acetessigsäure abgebaut wird. Baer und Blum<sup>5)</sup> ergänzten diese Befunde durch den Nachweis, daß auch beim Diabetiker die Zufuhr von Tyrosin und Phenylalanin die Ausscheidung der Acetonkörper erhöht. Endlich hat Abderhalden<sup>6)</sup> kürzlich

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 15, S. 228 (1891).

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 37, S. 581 (1904).

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 18, S. 304 (1893).

<sup>4)</sup> Hofmeisters Beiträge, Bd. 8, S. 152 (1906).

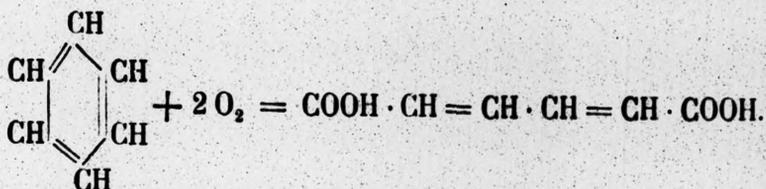
<sup>5)</sup> Arch. f. experim. Pathol., Bd. 56, S. 96 (1907).

<sup>6)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 77, S. 454 (1912).

HR John  
1913

eine normale Versuchsperson beobachtet, die nach Zufuhr von 50 g Tyrosin Homogentisinsäure, wenn auch nur in sehr geringer Menge, im Harn aufwies, während allerdings Abderhalden selbst sogar nach 141 g Tyrosin keine Homogentisinsäure ausschied. Im allgemeinen gilt es heute als höchst wahrscheinlich, daß der Abbau der aromatischen Amidosäuren im Organismus über die Homogentisinsäure zur Acetessigsäure führt. Doch sei ausdrücklich auf die abweichenden Anschauungen hingewiesen, die Wakeman und Dakin kürzlich<sup>1)</sup> entwickelt haben. Jedenfalls bleibt aber noch immer, von theoretischen Erörterungen abgesehen,<sup>2)</sup> völlig ungeklärt, auf welchem Wege die Aufspaltung des Benzolrings erfolgt.

Um so bedeutungsvoller mußte daher die von Jaffe im Jahre 1900 publizierte Entdeckung erscheinen,<sup>3)</sup> daß nach Verfütterung von viel Benzol (2—3 g täglich) an Hunde und Kaninchen Muconsäure im Harn erscheint in der geringen Ausbeute von 0,2—0,3%. Die Muconsäure erwies sich als äußerst leicht verbrennlich. Nach Injektion von 1 g wurden nur 0,1% im Harn wiedergefunden. Mit dieser Entdeckung war zum erstenmal experimentell erwiesen, daß der tierische Organismus auf oxydativem Wege den Benzolring glatt aufzuspalten vermag:



Die wichtige Frage, ob dieser Modus der Aufspaltung des Benzolrings allgemein dem Abbau der aromatischen Substanzen im tierischen Organismus zugrunde liegt, hat Jaffe selbst noch untersucht, und schon in seiner ersten Mitteilung erwähnte er, daß es ihm nicht gelungen sei, nach Verfütterung

<sup>1)</sup> Journ. of Biol. Chem., Bd. 9, S. 139 (1911).

<sup>2)</sup> Vgl. G. Embden, Salomon und Schmidt, Beitr. z. chem. Physiol. u. Path., Bd. 8, S. 153; Baer u. Blum, Arch. f. experim. Path., Bd. 56, S. 97, sowie Wakeman und Dakin, l. c.

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 72, S. 58 (1909).

von Tyrosin Muconsäure im Harn nachzuweisen. In weiteren Versuchen, die durch seinen Tod unterbrochen wurden, hat Jaffe, wie uns bekannt ist, mit ebenfalls negativem Ergebnis nach Verfütterung von Phenol und von Homogentisinsäure auf Muconsäure gefahndet. Es fehlt also vorläufig das Bindeglied zwischen Jaffes Befund und dem, was wir bisher von dem Abbau der aromatischen Amidosäuren im Organismus wissen, und es bleibt festzustellen, inwieweit wir zu der Annahme berechtigt sind, daß dieser Abbau über die Muconsäure oder, was ebenfalls in Betracht zu ziehen ist, über ein Substitutionsprodukt der Muconsäure führt.

Für die Beurteilung dieser Frage schien es, worauf Herr Prof. Ellinger uns freundlichst aufmerksam machte, nicht ohne Wert, festzustellen, ob die Muconsäure im Durchblutungsversuch an der Leber Acetessigsäure zu bilden vermag, wobei die Erwägung maßgebend war, daß, wenn die Muconsäure überhaupt als ein Abbauprodukt der aromatischen Amidosäuren in Betracht kommt, sie ebenso wie diese und ebenso wie die Homogentisinsäure zu den Acetessigsäurebildnern gehören muß.

Unsere Aufgabe wurde erheblich erleichtert durch das kürzlich von Behrend und G. ten Doornkaat Koolman<sup>1)</sup> veröffentlichte neue, bequeme Verfahren zur Darstellung der Muconsäure. Wir haben in genauer Verfolgung der von diesen Forschern gegebenen Vorschriften die Muconsäure dargestellt, wobei unsere Ausbeuten die von den Verfassern angegebenen Mengen meist nicht unerheblich übertrafen. Die Substanz war nach einmaligem Umkrystallisieren aus viel Wasser rein. F. 293°.

Die Durchblutung der überlebenden Leber nüchterner Hunde geschah im Apparat von Mandel in der im Embden'schen Laboratorium bewährten Ausführung.<sup>2)</sup> In allen Einzelheiten der Versuchsanordnung hielten wir uns an die von Embden

---

<sup>1)</sup> Liebigs Annalen, Bd. 394, S. 228 (1913).

<sup>2)</sup> Herrn Prof. Embden sei auch an dieser Stelle herzlicher Dank ausgesprochen für die freundliche Einführung in die Technik der Durchblutung, die er mir in seinem Frankfurter Laboratorium gewährte.

und seinen Mitarbeitern eingehaltenen Versuchsbedingungen, so daß unsere Tabellen direkt mit denen von Embden vergleichbar sind. Als Durchströmungsflüssigkeit dienten 1600 ccm Rinderblut, die Dauer des Versuchs war 60 Minuten. In je 150 ccm Blut wurde das Gesamtaceton bestimmt nach dem von Embden im Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden Bd. III, 2, S. 913 und 915 angegebenen Verfahren. Dazu werden die 150 ccm Blut mit ebensoviel Wasser, 300 ccm 2%iger HCl und 300 ccm 5%iger  $\text{HgCl}_2$ -Lösung versetzt und im Destillat aus 400 ccm des Filtrats das Aceton nach Messinger-Huppert bestimmt. Die in Kolonne 3a und 3b angegebenen Zahlen für die verbrauchten Kubikzentimeter  $\frac{1}{10}$ -n-Jodlösung beziehen sich auf das Destillat aus diesen 400 ccm eiweißfreier Lösung. In Kolonne 4 und 5 sind daraus die im Liter und im Gesamtblut (1600 ccm) neugebildeten Acetonmengen berechnet.

Tabelle I. — Leerversuche.

1	2	3		4	5	6
Nr.	Zusatz	Verbrauchte ccm $\frac{1}{10}$ -Jodlösung auf Destillat von 400 ccm eiweißfreien Blutfiltrats		Gebildete Menge Aceton pro Liter mg	Im ganzen gebildete Menge Aceton mg	Bemerkungen
		a) vor der Durchblutung	b) nach der Durchblutung			
1	—	0,86	0,85	—	—	Nur 20 Min. schlechte Durchblutung
2	—	0,0	0,83	12,0	19,6	Gute Durchblutung

In Versuch I ergab die Untersuchung des Blutes vor der Durchblutung einen auffallend hohen Acetonwert; auch ist die Durchblutung, die erste, die wir ausführten, nicht gut gelungen. Versuch 2 verlief dagegen ausgezeichnet. Die erhaltenen Werte entsprechen ganz den von Embden und Kalberlah<sup>1)</sup> in einer großen Zahl von Versuchen gefundenen Acetonmengen nach der Durchblutung normaler Hundelebern. Ihre Werte liegen zwischen 12 und 27 mg pro Liter Blut.

<sup>1)</sup> Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol., Bd. 8, S. 126 (1906).

Tabelle II. — Versuche mit Muconsäure.

1	2	3		4	5	6
Nr.	Zusatz	Verbrauchte ccm $n_{10}$ -Jodlösung im Destillat von 400 ccm eiweißfreien Blutfiltrats		Ge- bildete Menge Aceton pro Liter mg	Im ganzen gebildete Menge Aceton mg	Bemer- kungen
		a) vor der Durchblutung	b) nach der Durchblutung			
3	2 g Muconsäure als $\text{NH}_4$ -Salz	0,7	4,5	55,1	88,16	} Gute Durch- blutung
4	Desgl.	0,2	3,3	45,0	72,0	
5	2,5 g Mucon- säure als $\text{HH}_4$ -Salz	0,0	3,8	55,1	88,16	

Wie Tabelle II zeigt, tritt auf Zusatz von Muconsäure zum Durchblutungsblut jedesmal eine Vermehrung des gebildeten Acetons auf. Die Werte erreichen etwa die gleiche Höhe, wie sie in den Versuchen von Embden, Salomon und Schmidt<sup>1)</sup> bei Zusatz von  $\beta$ -Phenyl- $\alpha$ -Milchsäure (l. c. S. 150) oder von Homogentisinsäure (S. 153) erzielt wurde.

Es lag nahe, zu untersuchen, ob vielleicht Benzol selbst unter den gewählten Versuchsbedingungen im Durchblutungsversuch Aceton zu bilden vermag unter der Voraussetzung, daß zunächst eine Oxydation zu Muconsäure eintritt. Das Benzol wurde mit einer kleinen Menge Bluts gründlich durchgeschüttelt und dem Durchströmungsblut in kleinen Portionen zugesetzt.

Tabelle III. — Versuche mit Benzol.

1	2	3		4	5	6
Nr.	Zusatz	Verbrauchte ccm $n_{10}$ -Jodlösung im Destillat von 400 ccm enteiweißten Blutfiltrats		Ge- bildete Menge Aceton pro Liter mg	Im ganzen gebildete Menge Aceton mg	Bemerkungen
		a) vor der Durchblutung	b) nach der Durchblutung			
6	10 ccm Benzol	0,1	1,0	12,6	20,1	Blut stark verändert. gute Durchblutung
7	3 ccm Benzol	0,1	1,2	16,0	25,6	Blut normales Aussehen, gute Durchblutung

<sup>1)</sup> l. c., S. 150 und 153.

Das Resultat dieser Versuche erscheint negativ. Auch die Acetonmenge in Versuch 7, obwohl sie unsere Normalwerte (Tab. I) um ein Geringes übertrifft, liegt doch noch innerhalb der von Embden und Kalberlah gefundenen Grenzen für die Acetonbildung in der normalen Leber. Dennoch dürfen diese Versuche nicht etwa als entscheidende Beweise gegen die Möglichkeit einer Acetonbildung aus Benzol betrachtet werden. In Versuch 6 war die Menge des angewandten Benzols zu groß. Das Blut wurde bald lackfarben und behielt auch bei kräftiger Durchleitung von Sauerstoff eine blaurote Farbe. Der Versuch ist daher sicher nicht einwandfrei. In Versuch 7 mußte dann, um diese Fehlerquelle tunlichst zu vermeiden, eine relativ geringe Menge angewandt werden, gering besonders im Hinblick darauf, daß schon die etwa eintretende Oxydation zu Muconsäure nur in beschränktem Umfang zu erwarten war, und daß die zweite Etappe, die Acetonbildung aus Muconsäure, ebenfalls, wie unsere Versuche zeigen, keine großen Ausbeuten gibt. Endlich ist auch daran zu denken, daß wir nicht wissen können, ob die oxydative Aufspaltung des Benzolrings bis zur Muconsäurestufe gerade in der Leber vor sich geht.

**Zusammenfassung.** 1. Muconsäure, in Mengen von je 2 g dem Durchblutungsblut überlebender Leber zugesetzt, erhöht die Acetonbildung in diesem Organ um ca. das Vierfache.

2. Versuche über Acetonbildung durch Benzol führten, wegen der stark giftigen Wirkung dieser Substanz, zu keinem eindeutigen Resultat.

---