XIV.

Arbeiten aus dem Laboratorium für experimentelle Pharmakologie zu Strassburg.

39.

Ueber Spaltungen und Synthesen im Thierkörper.

Von

O. Schmiedeberg.

Während sich annehmen lässt, dass die Fette und Kohlehydrate oder wenigstens ihre nächsten Abkömmlinge, die Fettsäuren, das Glycerin und die Glykosen im thierischen Organismus durch die synthetische Oxydation ¹⁾ in derselben Weise wie die ähnlich constituirten Atomgruppen in den Seitenketten der aromatischen Verbindungen unmittelbar zu Kohlensäure und Wasser verbrannt werden, kann die Umwandlung der stickstoffhaltigen Körperbestandtheile in die Endproducte des Stoffwechsels nur in der Weise gedacht werden, dass zunächst durch eine Spaltung der ersteren das Material gebildet wird, aus welchem der Harnstoff unmittelbar durch Synthese hervorgeht. Die Ursachen und Bedingungen dieses Zerfalls stickstoffhaltiger Substanzen dürfte man am sichersten an solchen einfach constituirten Verbindungen zu ermitteln hoffen, die dabei einerseits gut charakterisirte und leicht nachweisbare Producte liefern und andererseits eine Uebertragung auf andere Fälle in möglichst weitem Umfange gestatten.

Diesen Anforderungen schien das Benzylamin am meisten zu entsprechen, wie bereits früher auseinandergesetzt ist.²⁾ Diese Base, welche den verschiedenartigsten Eingriffen gegenüber sich bekanntlich sehr widerstandsfähig verhält, wird im Organismus mit Leichtigkeit zersetzt, wobei als Endproducte Benzoësäure oder Hippursäure und, wie nothwendiger Weise angenommen werden muss, Harn-

¹⁾ Vgl. Schmiedeberg, Ueber Oxydationen und Synthesen im Thierkörper Dieses Archiv. Bd. XIV.

²⁾ *ibid.* Bd. VIII. S. 1. 1877.

stoff auftreten. Bei dieser Umwandlung sind alle Grundprocesse des Stoffwechsels betheiligt und zwar Spaltung, Oxydation und Synthese. Die Bedingungen der ersteren sind noch gänzlich unbekannt. Ihre Erforschung bildet aber nicht nur die Grundlage für die Erkenntniss der Umsetzung der dem Benzylamin nahe stehenden Amidoverbindungen mit Einschluss der Amidosäuren, sondern kann auch als Ausgangspunkt für die Untersuchung über den Zerfall der stickstoffhaltigen Körperbestandtheile im Allgemeinen dienen.

Die im Nachstehenden mitgetheilten Resultate sind im Wesentlichen mit Hilfe von Durchleitungsversuchen an überlebenden Organen gewonnen worden, über deren Ausführung an anderen Orten das Nöthige gesagt ist.¹⁾ Die Säuren und das Glykokoll, welche dem Blute zugesetzt wurden, befanden sich stets in einer mit Natronlauge neutralisirten Lösung. Das Benzylamin war nach der Angabe von Mendius²⁾ durch Reduction von Benzonitril mit Salzsäure und Zink dargestellt und das Chlorhydrat durch Umkrystallisiren aus wässrigem Alkohol gereinigt worden.

Die beiden folgenden Versuche beweisen zunächst, dass in der Hundeniere aus dem Benzylamin Benzoessäure nicht entsteht.

1. *Versuch.* 1 Liter Hundeblut wird mit 1,0 grm Benzylamin vermischt, welches als Carbonat in 10 ccm Wasser gelöst ist. Nachdem das Blut 3 Stunden durch die Niere geflossen ist, werden demselben weitere 0,3 grm von der Base zugesetzt und die Durchströmung noch 2 Stunden unterhalten. Im Ganzen fließen in den 5 Stunden 10—11 Liter Blut, welches von Zeit zu Zeit mit Kochsalzlösung von 0,8 pCt. verdünnt wurde, bei einem Druck von durchschnittlich 280 mm Hg durch die Niere.

Von dem Ureterenexsudat, welches gesondert untersucht wurde, konnten in den beiden letzten Stunden 190 ccm gesammelt werden.

Gefunden: a) in der Ureterenabsonderung viel unverändertes Benzylamin, keine Benzoessäure, kein Benzylharnstoff, 1—2 mgrm Hippursäure.

b) im Blute und der Niere keine Benzoessäure, kein Benzylharnstoff, Spuren von Hippursäure (weniger als im Exsudat).

2. *Versuch.* 600 ccm Hundeblut werden mit 0,5 grm Benzylamin als Chlorhydrat und 0,4 grm Glykokoll versetzt, von Zeit zu Zeit mit etwas Kochsalzlösung von 0,5 pCt. verdünnt und 4½ Stunden durch die Niere geleitet. Es fließen 3 Liter durch die letztere; Ureterenabsonderung mässig.

Keine Benzoessäure gefunden, dagegen 1—2 mgrm Hippursäure.

Der Zusatz von Glykokoll zum Blute geschah in Rücksicht auf

1) Bunge und Schmiedeberg, Dieses Archiv. Bd. VI. S. 245. 1876. — Schmiedeberg, *ibid.* XIV. 1881.

2) Ann. Chem. u. Pharm. Bd. 121. S. 129.

die Möglichkeit, dass die Hippursäurebildung zu den Bedingungen der Umwandlung des Benzylamins gehört.

Wenn in diesen Versuchen aus der Base Benzylalkohol entstanden wäre, so müsste dieser Benzoësäure geliefert haben, da seine Oxydation in der Niere mit Leichtigkeit erfolgt.¹⁾ Man kann daher annehmen, dass eine Spaltung in diesem Sinne nicht erfolgt ist und dass die Bedingungen, welche die Oxydation herbeiführen, nicht ausreichend sind, um aus dem Benzylamin Benzoësäure zu erzeugen.

Untersucht man in derselben Weise das Verhalten der Base in der Schweinsniere, so erweist sich die letztere in hohem Grade fähig, die Umwandlung in Benzoësäure herbeizuführen, wie die nachstehenden Versuche zeigen.

3. *Versuch.* 1½ Liter Schweinsblut werden mit 0,8 grm Benzylamin als Chlorhydrat versetzt und 3 Stunden durch die Niere geleitet, wobei 8—10 Liter durch die letztere fließen. Geringe Ureterenabsonderung.

Gefunden: 64 mgrm Benzoësäure und Spuren von Hippursäure.

4. *Versuch.* 700 ccm Schweinsblut werden mit 0,4 grm Benzylamin als Chlorhydrat vermischt und 5½ Stunden durch die Niere geleitet. Es fließen 4½ Liter durch die letztere.

Gefunden: 0,141 grm Benzoësäure und 1—2 mgrm Hippursäure.

5. *Versuch.* 1½ Liter Schweinsblut werden mit 0,525 grm Benzylamin als Chlorhydrat und 0,560 grm Glykokoll versetzt und 2¾ Stunden durch die Niere geleitet, durch welche in dieser Zeit 5—6 Liter fließen. Ureterenabsonderung ziemlich lebhaft.

Gefunden: 0,142 Benzoësäure, keine Hippursäure.

Die andere Niere und 1½ Liter Blut werden auf Benzoësäure und Hippursäure untersucht. Von beiden Säuren wird darin keine Spur gefunden.

6. *Versuch.* 1 Liter Schweinsblut wird mit 0,5 grm Benzylamin als Chlorhydrat und 0,6 grm Glykokoll vermischt und 3 Stunden lang durch die Niere geleitet, wobei 7 Liter die letztere passieren.

Gefunden: 0,145 Benzoësäure und 8 mgrm Hippursäure.

Trotzdem in der Schweinsniere aus dem Benzylamin reichliche Mengen von Benzoësäure gebildet werden, entsteht aus der letzteren auch bei Gegenwart von Glykokoll doch nur eine sehr geringe Menge von Hippursäure, was um so auffallender erscheint, als in den nachstehenden, in analoger Weise ausgeführten Versuchen, in denen das Blut von vorneherein fertige Benzoësäure und Glykokoll enthält, die Hippursäurebildung auch in der Schweinsniere ziemlich lebhaft erfolgt und zwar auch dann, wenn gleichzeitig Benzylamin zugegen ist, so dass dieses nicht als die Ursache für das Ausbleiben der Hippursäuresynthese anzusehen ist.

1) Vgl. „Ueber Oxydationen und Synthesen“. Dieses Archiv. Bd. XIV. 1881.

7. *Versuch.* 1 Liter Schweinsblut, welches mit 25 ccm einer neutralen Lösung von 0,5 grm Benzoëssäure und 0,6 grm Glykokoll vermischt ist, wird 3 Stunden lang durch die Niere geleitet, durch welche in dieser Zeit 10 Liter fließen.

Gefunden: 94 mgrm Hippursäure.

8. *Versuch.* 1 Liter Schweinsblut, welches 10 ccm einer neutralen Lösung von 0,1 grm Benzoëssäure und 0,12 grm Glykokoll enthält, wird $3\frac{1}{2}$ Stunden durch die Niere geleitet, durch welche 10 Liter Blut passiren.

Gefunden: 45 mgrm Hippursäure.

9. *Versuch.* 1 Liter Schweinsblut wird mit 20 ccm einer Lösung vermischt, in welcher 0,3 grm Benzoëssäure und 0,6 grm Glykokoll als neutrale Natriumsalze und 0,75 grm Benzylamin als Carbonat enthalten sind. Beim Durchleiten durch die Niere fließen durch dieselbe in $3\frac{1}{2}$ Stunden 11—12 Liter Blut. Die Absonderung aus dem Ureter ist sehr stark.

Gefunden: 49 mgrm Hippursäure.

Naheliegende Ueberlegungen führten dann weiter zu der auf den ersten Blick paradox erscheinenden Thatsache, dass sowohl die Nierensubstanz des Schweins als auch die des Hundes sowie andere Organe beider Thierarten und nicht selten sogar das Blut die Hippursäure zu spalten im Stande sind. Es konnte dann leicht festgestellt werden, dass diese Spaltung nicht von einer vitalen Function der unveränderten Gewebe, sondern von einer nach Art der ungeformten Fermente oder Enzyme wirkenden Substanz abhängig ist, welche bei den Stoffwechselvorgängen in den Geweben eine grosse Rolle zu spielen scheint und deshalb den Namen Histozyim erhalten mag.

Dasselbe lässt sich in ähnlicher Weise wie andere derartige Enzyme, mit Albuminaten und peptonartigen Substanzen verunreinigt, am Besten aus der Schweinsniere in Form einer weissen, kreideartigen Masse darstellen, deren klar filtrirter wässriger Auszug Hippursäure in neutraler oder alkalischer Lösung ziemlich energisch zersetzt.

Zur Gewinnung der histozyimhaltigen Substanz werden die fein zerhackten oder zerriebenen Schweinsnieren entweder unmittelbar mit Glycerin extrahirt oder nach dem Erhärten unter Alkohol getrocknet und dann mit Hilfe der Presse mit Wasser ausgezogen.

Die filtrirten Auszüge werden durch das 8—10fache Volum absoluten Alkohols gefällt, der Niederschlag auf einem Filter gesammelt und im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet. Das Glycerin lässt sich von der Nierensubstanz ziemlich leicht abfiltriren, wenn man dem Gemenge ein wenig Alkohol zusetzt. Histozyim scheint dadurch nicht gefällt zu werden. — Ob man das eine oder das an-

dere Verfahren anwendet, stets erhält man nur einen kleinen Theil der wirksamen Substanz aus den verarbeiteten Organen in Form jener trockenen Masse. Ob der Verlust durch Zersetzung oder durch besondere Löslichkeitsverhältnisse des Histozyms herbeigeführt wird, muss durch besondere Versuche festgestellt werden. Vor allen Dingen darf die Menge des zur Fällung verwendeten Alkohols keine zu geringe sein. Lässt man den Nierenbrei unter dem 3—4fachen Volum Alkohol erhitzen, filtrirt diesen dann ab und versetzt ihn mit einem Gemisch von Alkohol und Aether, so fällt dabei noch Histozyim heraus. Extrahirt man die entfettete, trockene Nierensubstanz mit Wasser, so behält der Rückstand trotzdem die Eigenschaft Hippursäure zu spalten; während der wässrige Auszug allerdings die stärkste Wirkung entfaltet. Zuweilen ist die unter Alkohol erhärtete Nierensubstanz von vorneherein unwirksam, namentlich wenn man zur Entfettung Aether angewendet hat. In diesen Fällen scheint es sich um eine Zersetzung des Histozyms zu handeln.

Da in der Niere beim Durchleiten von Benzoësäure und Glykokoll in sauerstoffhaltigem Blut Hippursäure entsteht, während die letztere in der zerhackten und zerriebenen Nierensubstanz gespalten wird, so ist von vorneherein der Verdacht nicht abzuweisen, dass das Histozyim, welches jene Spaltung bewirkt, erst in der zerkleinerten Niere auftritt, also ein postmortales Product ist.

Allein einer solchen Annahme widersprechen die Resultate der folgenden Versuche, welche zeigen, dass die Hippursäure auch dann die Zersetzung erfährt, wenn sie in derselben Weise wie in den Versuchen, die zu ihrer Synthese führen, durch die Schweinsniere geleitet oder in zweckentsprechender Form dem Gesamtorganismus des Hundes einverleibt wird.

10. Versuch. 1 Liter Schweinsblut wird mit 0,8 grm Hippursäure als Natriumsalz versetzt und 4 Stunden lang durch die Niere geleitet, durch die es in dieser Zeit 9—10 mal durchfließt.

Gefunden: 0,087 grm Benzoësäure, entsprechend 0,1276 grm Hippursäure.

11. Versuch. Einem grossen Hunde werden in der Chloroformnarkose mit Schonung des Peritoneums beiderseits die Nierenarterien unterbunden und dann zunächst 2,5 grm, nach 3 Stunden abermals 2,0 grm Hippursäure als Natronsalz in den Magen gebracht. Nach der zweiten Gabe tritt Erbrechen ein. 5 Stunden nach der Operation wird das Thier durch Verbluten getödtet.

Gefunden im Blute 10 mgrm Benzoësäure neben bedeutenden Mengen von Hippursäure. Im Mageninhalt ist viel von der letzteren, aber keine Spur von Benzoësäure enthalten.

12. *Versuch.* Einem kleinen Hunde werden nach Eröffnung des Peritoneums die Nierengefässe unterbunden und 10 ccm einer Lösung von 1,0 grm Hippursäure als Natriumsalz in die Halsvene eingespritzt. Es treten darnach keine besonderen Erscheinungen auf. Die Verblutung findet nach 5 Stunden statt, wobei das Blut durch eine Kochsalzlösung von 1 pCt. soviel wie möglich aus den Gefässen ausgewaschen wird.

Gefunden im Blute 12 mgrm Benzoësäure und 63 mgrm Hippursäure.

Die Intensität, mit der die Hippursäure im Gesamtorganismus des Hundes gespalten wird, scheint zwar eine geringe zu sein, doch darf sie nicht allein nach der Menge der Benzoësäure bemessen werden, die im Blute gefunden wird, da der Vorgang nicht im letzteren, welches histozymfrei ist, sondern in den Geweben abläuft.

Die Thatsache, dass die Hippursäure im Organismus gespalten wird, gewinnt eine grosse Bedeutung für die Frage nach dem Ort der Hippursäurebildung. Die letztere und die Spaltung können, wie die Durchleitungsversuche an der Schweinsniere zeigen, gleichzeitig und unabhängig von einander in demselben Gewebe verlaufen. Im letzteren wird man unter solchen Verhältnissen nach der Zufuhr von Glykokoll und Benzoësäure nur dann Hippursäure finden, wenn von dieser in der Zeiteinheit mehr gebildet als gespalten wird. Im entgegengesetzten Falle wird es den Anschein haben, als sei das betreffende Organ überhaupt nicht im Stande diese Synthese zu Wege zu bringen.

Ob mehr Hippursäure gespalten oder gebildet wird, wird aber einerseits von der Intensität, mit der die Synthese erfolgt, und andererseits von der Menge des in dem Gewebe oder im Blute enthaltenen Histozyms abhängig sein.

Zunächst müssen geeignete Fermentationsversuche einen Anhalt für die Beurtheilung der Stärke der Hippursäurespaltung in den einzelnen Organen und im Blute verschiedener Thiere liefern. Eine Reihe solcher Versuche habe ich bereits ausgeführt. Sie sind aber noch nicht zahlreich und zum Theil auch noch nicht gleichartig genug, um aus ihren Resultaten ein sicheres Urtheil über den Zusammenhang von Histozymsgehalt und Hippursäuresynthese in einem Gewebe zu gewinnen. Mit einigem Vorbehalt lassen sich über die Vertheilung des Histozyms in verschiedenen Organen des Hundes und Schweines folgende Angaben machen. Die relative Menge des Histozyms ist dabei aus der Stärke der Hippursäurespaltung durch gleiche Mengen von Organsubstanz bei derselben Temperatur und unter sonst gleichen Bedingungen erschlossen.

Das Blut des Hundes enthält nach den bisherigen Erfahrungen niemals so viel Histozym, dass es Hippursäure spaltet. Im Schweins-

blut findet es sich in der Regel in bedeutenden Mengen; reichlich ist es in der Leber des Hundes und in der Niere des Schweines vertreten, während die Lunge des letztgenannten Thieres stets einen geringen, die Niere des Hundes einen geringen bis mittleren Histozyimgehalt aufweisen. Die Schweinsnieren z. B. spaltet die Hippursäure unter den erwähnten gleichen Bedingungen mindestens 3- bis 4 mal, in der Regel aber 10—20 mal so stark als die Hundenieren. Das letztere Verhältniss besteht auch zwischen Lunge und Niere des Schweines.

In derartigen Fermentationsversuchen waren die verschiedenen Gemische von Organbrei mit Wasser oder Blut fast während eines ganzen Tages einer Temperatur von 20—27° C. ausgesetzt, so dass sie leicht in Fäulniss übergehen konnten. Obgleich von dieser bis auf einen Fall keine deutlichen Zeichen nachweisbar waren, liess sich doch von vorneherein der Einfluss niederer Organismen auf die Zersetzung der Hippursäure nicht abweisen. Indessen zeigt der folgende Doppelversuch, dass dieser Einfluss auch unter Bedingungen, die der Entwicklung von Fäulnisfermenten viel günstiger sind, ein verhältnissmässig sehr geringer ist.

13. Versuch. 20 cem einer Histozyimlösung aus 0,8 grm durch Glycerinbehandlung gewonnener trockener Fermentmasse, von der sich nur der kleinste Theil löst und welche etwa $\frac{1}{2}$ Niere entspricht, werden mit 0,2 grm Hippursäure in schwach alkalischer Lösung vermischt. In derselben Weise werden 20 cem einer Lösung von käuflichem Albumin mit 0,2 grm Hippursäure vermischt. Beide Proben bleiben an demselben Orte 65 Stunden lang bei 20—25° C. stehen.

Gefunden: a) in der Histozyimlösung **0,130** grm Benzoësäure, entsprechend 0,1907 grm Hippursäure.

b) in der Eiweisslösung **0,012** grm Benzoësäure, entsprechend 0,017 grm Hippursäure.

Die Hippursäure ist durch das Histozyim fast vollständig, in der eiweisshaltigen Flüssigkeit dagegen nur in sehr geringer Menge zersetzt.

Die Gefahr, dass Bakterienentwicklung die Fermentationsversuche stört, ist daher keine grosse. Durch die klaren histozyimhaltigen Lösungen kann man, wenn sie recht wirksam sind, im Laufe eines Tages bedeutende Mengen von Hippursäure spalten, ohne dass eine Trübung der Flüssigkeit in Folge von Bakterienentwicklung eintritt. In gleicher Weise dargestellte, aber unwirksame Lösungen dagegen führen keine Zersetzung der Säure herbei, auch wenn sie sich beim Stehen trüben.

Die Vertheilung des Histozyims in den verschiedenen Organen

desselben Thieres gestattet keinen unmittelbaren Schluss auf ihr Verhalten bei der Hippursäurebildung. Diese erfolgt wahrscheinlich in allen oder wenigstens den meisten Organen des Körpers, aber mit sehr verschiedener Intensität, die man vorläufig von der Anzahl der hippursäurebildenden Elementarorgane (Protoplasmacentren) abhängig machen kann.

Ist die Menge derselben an irgend einer Localität des Organismus sehr gross, wie wir es für die Niere annehmen müssen, so summirt sich ihre Wirkung in hohem Grade und das Product derselben, die Hippursäure, häuft sich derartig an, dass eine vollständige Zerstörung auch dann nicht zu Wege gebracht wird, wenn das Histozytm sich in reichlichen Mengen nicht nur in dem Gewebe sondern auch in dem das letztere durchströmenden Blute findet, wie es in den Durchleitungsversuchen an der Schweinsnieren der Fall ist. Wenn aber ein solches mit hippursäurebildenden Elementen reichlich ausgestattetes Organ nur wenig Histozytm beherbergt, letzteres ausserdem in dem durchfliessenden Blute fehlt, so erscheint ein derartiges Organ in hohem Maasse als ein hippursäurebildendes, wie wir es an der Hundeniere kennen.

Die Lunge des Schweines spaltet Hippursäure nur in sehr geringem Maasse, erzeugt aber auch unter gewöhnlichen Verhältnissen keine. Man kann aber ihre Bildung gleichsam erzwingen, wenn man sehr viel Benzoessäure anwendet. Obgleich die Menge der entstandenen Hippursäure selbst in diesem Falle eine verschwindend kleine ist, so genügt sie doch, um den Beweis zu liefern, dass auch diesem Organ die Fähigkeit nicht ganz abgeht, diese Synthese zu vermitteln, wie die nachstehenden Versuche zeigen.

14. Versuch. Die Gefässe einer Schweinslunge werden mit 250 ccm Blut gefüllt, welches mit 30 ccm einer neutralen Lösung von 0,3 grm Benzoessäure und 0,36 grm Glykokoll (2_nMol.) vermischt ist. Die Dauer der künstlichen Ventilation betrug 2½ Stunden.

Hippursäure wird nicht gefunden.

15. Versuch. Die Gefässe der Schweinslunge werden mit 250 ccm Blut gefüllt, welches mit 30 ccm einer neutralen Lösung von 2,0 grm Benzoessäure und 1,0 grm Glykokoll versetzt ist. Die Ventilation dauert 3 Stunden.

Gefunden: etwa 2 mgrm Hippursäure.

16. Versuch. In derselben Weise wie der vorige Versuch, aber mit 3,0 grm Benzoessäure und 1,0 grm Glykokoll ausgeführt.

Gefunden: etwa 1 mgrm Hippursäure.

Vielleicht hätte in diesen Versuchen die Anwendung des histo-

zymfreien Hundebluts die Anhäufung grösserer Hippursäuremengen gestattet.

Zur sicheren Beantwortung weiterer Fragen in Betreff des Ortes der Hippursäurebildung reichen die bisher gewonnenen Thatsachen nicht aus. Man könnte zwar annehmen, dass beim Hunde die Leber als grosses histozyereiches Organ allein im Stande sei, die Anhäufung der Hippursäure auch in allen übrigen Organen zu verhindern, allein zu einer klaren Anschauung über die einschlägigen Verhältnisse wird man erst gelangen, wenn eine genügende Reihe unter den verschiedensten Bedingungen ausgeführter Fermentationsversuche eine umfassende Beurtheilung des Zusammenhanges zwischen Histozyengehalt und Hippursäuresynthese gestatten wird. Während im Organismus des Hundes mit Ausnahme der Nieren wenigstens unter gewöhnlichen Verhältnissen keine Hippursäure entsteht, fanden Sal-kowski und Salomon¹⁾ beim Kaninchen nach der Exstirpation der Nieren und nach der Injection von Benzoesäure und Glykokoll in den Magen zuweilen ganz erhebliche Mengen jener Säure in den Muskeln, der Leber und dem Blute. Es ist von vorneherein nicht unwahrscheinlich, dass dieser Unterschied zwischen den beiden Thierarten nicht auf einem Gegensatz in dem Vermögen der Organe Hippursäure zu bilden, sondern auf ihrem verschiedenen Gehalt an Histozyen beruht. Der letztere scheint auch bei den einzelnen Individuen derselben Thierart sehr erheblichen Schwankungen zu unterliegen, wie insbesondere vorläufige Fermentationsversuche mit Hundenieren ergaben. Wenn in Folge solcher Schwankungen in einem Falle die Histozymenge der Niere eine gewisse Grenze überschreitet, wenn gleichzeitig viel Benzoesäure im Blute circulirt, so könnte ein Theil der letzteren leicht der Umwandlung in Hippursäure entgehen, oder diese wieder in jene zurückverwandelt werden.

Weiske²⁾ theilte die merkwürdige Beobachtung mit, dass ein Hammel, welchem mit dem Futter Benzoesäure zugeführt war, die letztere im Harn wieder unverändert ausschied. Auch ein Zusatz von Glykokoll zum Futter veränderte daran nichts.

W. v. Schroeder³⁾ wiederholte diese Versuche und fand, dass der von ihm benutzte Hammel unter den gleichen und unter ähnlichen Bedingungen Benzoesäure fast vollständig in Hippursäure verwandelte. Man kann zur Erklärung dieser Thatsache annehmen, dass in dem Falle von Weiske die Nieren des Hammels sehr viel,

1) Ztschr. f. phys. Chem. Bd. III. S. 367.

2) Ztschr. f. Biologie. Bd. XII. S. 241.

3) Ztschr. f. phys. Chem. Bd. III. S. 323.

in dem von Schroeder wenig Histozyum enthalten haben. Welches von beiden Verhältnissen beim Hammel das normale ist, lässt sich vorläufig mit Sicherheit nicht angeben. Vermuthlich ist es das, mit welchem Schroeder es zu thun hatte.

Die Nieren sind gleichsam die Pforte, an der die Schicksale der Benzoësäure bei ihrem Uebergang in den Harn entschieden werden. Da diese Organe beim Hunde der alleinige Ort sind, an welchem die Bildung der Hippursäure die Spaltung überwiegt, so kann an diesen Thieren nach der Einführung etwas grösserer Mengen von Benzoësäure in den Magen, wie es Nencki und Spengel¹⁾ beobachteten, oder nach der Injection von benzoësaurem Natrium in das Blut, wie Bunge und ich²⁾ fanden, verhältnissmässig viel von dieser Säure sich der Umwandlung in Hippursäure entziehen und unverändert in den Harn übergehen, auch wenn das Histozyum der Nieren keine Vermehrung erfahren hat.

In Folge von Nierenkrankheiten am Menschen könnte das hippursäurebildende Parenchym soweit zerstört werden, dass die Synthese gegenüber der Spaltung zurückbleibt und Benzoësäure im Harn auftritt. In dieser Weise liesse sich eine einschlägige Beobachtung von Jaarsveld und Stockvis³⁾ deuten, wenn es erlaubt wäre, die von ihnen gemachten Angaben als Thatsachen anzusehen. Allein die bereits von Schroeder⁴⁾ und Salkowski⁵⁾ hervorgehobene ungenügende Handhabung der zum Nachweis der Hippursäure dienenden Methode seitens dieser Autoren gestattet es vorläufig nicht, die Resultate ihrer an Nierenkranken angestellten, an sich interessanten Versuche als gesichert zu betrachten.

Die hier berührten Fragen und zahlreiche andere, die sich von selbst ergeben, müssen durch eine Reihe einzelner, selbstständiger Untersuchungen ihre Beantwortung finden. Vor allen Dingen wird der Nachweis zu führen sein, dass auch solche Gewebe, in welchen wir unter gewöhnlichen Verhältnissen keine Hippursäure finden, diese dennoch unter künstlich herbeigeführten Bedingungen zu bilden im Stande sind. Das wird sich dadurch erreichen lassen, wie vorläufige, darauf bezügliche Erfahrungen lehren, dass man Mittel und Wege aufsucht, durch welche die Wirkung des Histozyms vermindert wird, ohne dass die Thätigkeit der Organelemente, welche die Synthese besorgen, eine Einschränkung erfährt.

1) Spengel, Ueber den chemischen Vorgang bei der Hippursäurebildung im Thierkörper. Inaug.-Diss. Bern. 1875.

2) Dieses Archiv. Bd. VI. S. 248. Vers. XVI. 1876,

3) ibid. Bd. X. S. 268—300. 1879.

4) Ztschr. f. phys. Chem. Bd. III. S. 325.

5) ibid. Bd. III. S. 371.

Kehren wir jetzt zu der Frage nach den Ursachen und Bedingungen der Umwandlung des Benzylamins zurück, so erscheint von vorneherein die Annahme gerechtfertigt, dass das Histozym dabei eine grosse Rolle spielt. Aber seine Bedeutung in dieser Beziehung in der directesten Weise festzustellen ist mit Schwierigkeiten verbunden. Denn durch das Ferment allein ohne Oxydation kann keine Benzoësäure entstehen. Andere Producte aber, z. B. der besonders in Betracht kommende Benzylalkohol sind in den kleinen Mengen, um die es sich dabei handelt, schwer nachweisbar. Daher haben die negativen Resultate, die in Bezug auf die Bildung des Benzylalkohols aus dem Benzylamin unter dem Einfluss der klaren Histozymlösung erhalten wurden, keine besondere Bedeutung.

Es wurde daher ein anderer Weg eingeschlagen, um zur Lösung dieser Frage zu gelangen. Wenn in den Durchleitungsversuchen an der Niere des Hundes der geringe Gehalt der letzteren an Histozym und sein Fehlen im Blute die Spaltung des Benzylamins verhindert, so durfte man erwarten, dass in derartigen Versuchen nach dem Zusatz einer Fermentlösung zum Blut die Bildung der Benzoësäure aus jener Base wie in der Schweinsniere erfolgen werde. Diese Erwartung wurde durch die folgenden Versuche bestätigt.

17. *Versuch.* 500 ccm Hundeblut werden mit einer durch Glycerinbehandlung gewonnenen Histozymlösung, welche $\frac{1}{2}$ Niere entspricht, und 0,25 grm Benzylamin als Chlorhydrat in 5 ccm Lösung versetzt und 4 Stunden lang durch die Niere geleitet, durch welche das Blut 5 mal durchfliesst.

Keine Benzoësäure, dagegen 1—2 mgrm Hippursäure gefunden.

18. *Versuch.* 900 ccm Hundeblut werden mit 60 ccm Histozymlösung, welche $3\frac{1}{2}$ Nieren entspricht, und 0,5 grm Benzylamin als Chlorhydrat in 10 ccm Lösung versetzt und 4 Stunden lang durch die Niere geleitet, durch welche 12—13 Liter passiren. Während des Durchleitens nimmt das Blut einen sehr ausgesprochenen, an Benzonitril oder Bittermandelöl erinnernden Geruch an.

Gefunden: 12 mgrm Benzoësäure und 1—2 mgrm Hippursäure.

19. *Versuch.* 600 ccm Hundeblut werden mit 290 ccm Histozymlösung, entsprechend 8 Schweinsnieren, und 0,5 grm Benzylamin wie im vorigen Versuch vermischt und 6 Stunden lang durch die Niere geleitet, durch welche in dieser Zeit 14 Liter fliessen. Während des Durchleitens nimmt das Blut einen ziemlich starken aromatischen Geruch an, der nicht wie im vorigen Versuche benzonitril- oder bittermandelähnlich erscheint, sondern die meiste Aehnlichkeit mit dem des Benzylalkohols hat.

Gefunden: 9 mgrm Benzoësäure und 20 mgrm Hippursäure.

20. *Versuch.* 435 ccm Hundeblut werden mit 55 ccm Histozymlösung, welche durch Glycerinbehandlung aus 10—11 Schweinsnieren er-

halten war, und 10 cem einer Lösung von 0,5 grm Benzylamin als Chlorhydrat vermischt und 6 Stunden lang durch die Niere geleitet, durch welche in dieser Zeit etwa 14 Liter fliessen.

Gefunden: Benzoësäure und Hippursäure. Die Substanzen gingen vor der Wägung verloren; doch schien ihre Menge wenigstens nicht geringer zu sein, als im vorigen Versuch.

Mit Ausnahme des Versuchs 17, in welchem die Menge des Ferments nur einer halben Niere entspricht, ist in den übrigen durch den Zusatz der klaren, aus dem Glycerinauszug der Schweinsniere gewonnenen Histozymlösung eine Umwandlung des Benzylamins eingetreten, während die Hundeniere und das Hundeblood allein in den oben mitgetheilten Versuchen keine Spur von Benzoësäure aus der Base gebildet hatten.

Die Bedeutung des Histozyms für diesen Vorgang ist damit erwiesen, nicht aber, wie der letztere sich dabei gestaltet. Wenn es sich zunächst nur um eine einfache Spaltung der Base handelt, so muss als nächstes Product neben Ammoniak Benzylalkohol auftreten nach der Formelgleichung:

Ein Vorversuch zeigte, dass aus dem Benzylamin auch in einem Gemisch von sauerstoffhaltigem Blut und feinerhackter Schweinsniere Benzoësäure gebildet wird. Wenn die letztere aus dem Benzylalkohol hervorgegangen ist, so durfte man erwarten, von diesem in derartigen Versuchen einen Theil unverändert zu finden. Diese Erwartung wurde in der That in dem folgenden Versuche erfüllt.

21. *Versuch.* Eine Schweinsniere wird fein zerrieben, mit 20—30 cem Wasser und 200 cem Schweinsblood vermischt, das Gemisch durch Leinen gepresst, die Flüssigkeit colirt und dann mit 0,5 grm Benzylamin als Chlorhydrat in 10 cem Lösung versetzt. Nach 22 Stunden langem Stehen bei 20—30° C. wird das Gemisch mit dem gleichen Volum Wasser verdünnt, neutralisirt und im Paraffinbade der Destillation unterworfen. Das farblose, sehr schwach alkalisch reagirende Destillat wird mit verdünnter Kalilauge versetzt, mit Aether geschüttelt, der abgegossene Aether dann mit angesäuertem Wasser gewaschen und in einer Glasschale bei niedriger Temperatur verdunstet.

Es hinterbleiben einige ölige Tropfen, welche bei der Oxydation mit Salpetersäure Benzoësäure liefern.

Dass diese öligen Tropfen nichts Anderes als Benzylalkohol gewesen sind, lässt sich wohl mit genügender Sicherheit annehmen. Für eine definitive unumstössliche Feststellung dieser Thatsache müssen durch Versuche im grossen Maassstabe Mengen der Substanz gewonnen werden, welche die Ausführung einer Elementaranalyse gestatten.

Aehnliche Versuche mit reinem Blut ohne Nierensubstanz und mit der letzteren ohne Blut sowie mit Histozymlösungen fielen bisher negativ aus. Benzylalkohol wurde dabei nicht gefunden. Doch darf daraus vorläufig nicht der Schluss gezogen werden, dass zur Spaltung des Benzylamins gleichzeitig Histozym und Sauerstoffblut erforderlich sind, weil in diesen Fällen wegen der geringen Mengen von Histozym im Blute und der Niere allein, als in beiden zusammen nur wenig Benzylalkohol gebildet sein konnte, dessen Nachweis mit Unsicherheiten verbunden ist.

Wir können demnach annehmen, dass die Umwandlung des Benzylamins im Organismus in der Weise erfolgt, dass zunächst aus ihm unter dem Einfluss des Histozyms durch Spaltung Benzylalkohol und Ammoniak hervorgehen, von denen der erstere zu Benzoessäure oxydirt wird, die in geeigneten Fällen mit Glykokoll zu Hippursäure zusammentritt, während das Ammoniak durch Synthese mit Kohlensäure Harnstoff liefert. Freies Ammoniak braucht dabei in nachweisbaren Mengen nicht aufzutreten, weil die Harnstoffsynthese in demselben Maasse wie die Abspaltung erfolgen kann, wodurch die Anhäufung verhindert wird. In ähnlicher Weise hat man sich die Umwandlung anderer, dem Benzylamin analoger Amidverbindungen, namentlich der Amidosäuren zu denken. Das stickstofffreie Spaltungsproduct des Glykokolls z. B. verbrennt zu Wasser und Kohlensäure, wobei die letztere mit dem Ammoniak sofort Harnstoff liefert.

Weitere speciell darauf gerichtete Untersuchungen werden über die Bedeutung des Histozyms für die Spaltung zunächst der stickstoffhaltigen Gewebsbestandtheile bei den Stoffwechselvorgängen im Allgemeinen Aufschluss geben. Aber schon in den mitgetheilten Versuchen finden sich einige Andeutungen über die Rolle, die es dabei spielt. Während Niere und Blut des Hundes unmittelbar nach der Tödtung des Thieres niemals Hippursäure enthalten, wird die letztere in den Durchleitungsversuchen stets in kleiner Menge gebildet, auch wenn dem Blute keine Benzoessäure oder ein Benzoessäure lieferndes Material zugesetzt war. Die Componenten sind dabei wahrscheinlich aus den Gewebsbestandtheilen entstanden. Etwas grösser fällt die Menge der Hippursäure aus, wenn man dem Blute Benzoessäure ohne Glykokoll zusetzt; am grössten ist sie im Versuch 19. Die Quelle für das Glykokoll können auch hier nur die Gewebsbestandtheile sein, die unter dem Einfluss des zugesetzten Histozyms eine verstärkte Spaltung erfahren haben.

Wenn das Histozym die für den Stoffwechsel nothwendigen Spaltungen der stickstoffhaltigen Gewebsbestandtheile besorgt und die

Intensität dieses Vorganges von der Menge des Enzyms abhängig ist, so lässt sich von vorneherein erwarten, dass eine Zunahme desselben im Blute oder den Geweben eine verstärkte Spaltung und Umsetzung von Körperbestandtheilen herbeiführen werde, wobei ein wahrer fieberhafter Zustand sich ausbilden muss. Diese Voraussetzung liess sich in der That leicht bestätigen. Injectionen von Histozymlösungen in das Blut von Hunden bringen starkes Fieber hervor, das mit Erscheinungen eines allgemeinen Krankseins und namentlich mit Durchfällen verbunden ist. Die Resultate dieser Versuche stimmen genau mit jenen überein, welche Al. Schmidt und Edelberg¹⁾ nach der Injection von Fermentlösungen aus Rindsblut erhielten. Letzteres oder das Serum desselben war nach dem Erhärten unter Alkohol getrocknet, gepulvert und dann mit Wasser extrahirt worden. Diese Lösungen enthielten das von Al. Schmidt entdeckte Fibrinferment und dieses wird daher in der Arbeit von Edelberg als ursächliches Moment für das Fieber und den dasselbe begleitenden Symptomencomplex angesehen. Aber wahrscheinlicher ist es, dass jene Erscheinungen von einem Histozyengehalt der verwendeten Lösungen abhängig waren. Für diese Anschauung spricht nicht nur die völlige Uebereinstimmung der Wirkungen mit denen des Histozyms, sondern ganz besonders der Umstand, dass Edelberg diese fieberhafte Krankheit auch dann hervorrufen konnte, wenn er Lösungen verwendete, welche in derselben Weise aus Rindsblut dargestellt, aber ganz frei von Fibrinferment waren. Sie enthielten jedenfalls Histozym und dieses muss in jenen Fällen als wirksamer Bestandtheil angesehen werden.

Die Bedeutung des Fibrinferments für die Pathologie besteht darin, dass es Gerinnungen im circulirenden Blut hervorbringt. Das Histozym vermittelt unter gewöhnlichen Verhältnissen den normalen Stoffwechsel, in krankhaften Zuständen muss von ihm die Steigerung des Stoffumsatzes in Form des Fiebers abgeleitet werden. Ob es dabei in vermehrter Menge auftritt oder ob die Bedingungen für seine Wirksamkeit gesteigert werden, wird sich voraussichtlich auf experimentellem Wege entscheiden lassen. Diese sowie zahlreiche andere Fragen, die sich an die Existenz dieses eigenartigen Enzyms knüpfen, werden aber nur durch umfangreiche Einzeluntersuchungen zu lösen sein. Zunächst sollen jene über die Bedeutung des Histozyms für das Zustandekommen des Fiebers weiter geführt werden.

Strassburg, im August 1881.

1) Dies. Arch. Bd. XII. S. 283. 1880.