

(Aus dem chem.-mikrosk. Laboratorium von Dr. M. u. Dr. Ad. Jolles in Wien.)

## Beiträge zur Kenntniss der Hippursäure.

Von

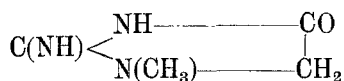
Docent Dr. **Adolf Jolles** in Wien.

---

Die Formen, in denen die Hauptmenge des Stickstoffes der Eiweisskörper bei den verschiedenen thierischen Organismen zur Ausscheidung gelangt, sind im Wesentlichen der Harnstoff, die Harnsäure und die Hippursäure. Diese Körper sind als Endproducte der Oxydationsspaltung von Eiweisskörpern für die betreffenden Organismen aufzufassen, so die Harnsäure bei den Vögeln und Reptilien, der Harnstoff bei normalen menschlichen Individuen, und Hippursäure neben Harnstoff bei Pflanzenfressern. Bezüglich der genetischen Beziehungen dieser drei Körper zu einander ist zwar der Zusammenhang zwischen Harnstoff und Harnsäure insofern bekannt, als unsere gegenwärtige Auffassung über die Constitution der Harnsäure und ihre synthetische Darstellung uns zur Annahme eines engen Zusammenhanges veranlasst. Ausserdem resultirt Harnstoff bei den verschiedenen Spaltungen der Harnsäure, und dieser Process lässt sich — wie ich gezeigt habe — bei Einhaltung bestimmter Bedingungen quantitativ gestalten. Weniger klar liegt der Zusammenhang zwischen Hippursäure einerseits, und Harnstoff und Harnsäure andererseits. Es ist zwar bekannt, dass durch Einführung von Benzoësäure in den thierischen Organismus Stickstoff, welcher sonst in Form von Harnstoff austreten würde, als Hippursäure erscheint, und dass andererseits nach Einführung von Glykocoll — dem einen Componenten der Hippursäure — in den Organismus eine entsprechende Mehrausscheidung von Harnstoff erfolgt. Auf welche Art jedoch diese Wechselbeziehungen zu erklären sind, ist bis jetzt unaufgeklärt geblieben. Nachdem es mir gelungen ist, Harnsäure ebenso wie eine Reihe von Purinbasen ganz oder zum

grössten Theile in Harnstoff überzuführen<sup>1)</sup> und so gewissermaassen den Oxydationsprocess, der im Organismus vor sich geht, nachzuahmen, habe ich versucht, Hippursäure derselben Behandlung zu unterziehen.

Bekanntlich zerfällt Hippursäure beim Kochen mit Säuren in Glykocoll und Benzoësäure. Das Glykocoll ist aber äusserst resistent gegen Permanganat in saurer Lösung, so dass die Oxydation unter den eingehaltenen Bedingungen so gut wie gar nicht stattfindet. Der Grund hierfür ist offenbar in der ringförmigen Structur zu suchen  $\text{NH}_3\text{-CH}_2\text{-CO-O}$ , wofür nicht nur der Umstand spricht, dass in alkalischer Lösung, in welcher der Ring nach Analogie der Lactone aufgespalten wird, die Oxydation zu Harnstoff erfolgt, sondern auch die Beobachtung, dass Glykocoll ester, bei welchem der Eintritt der Aethylgruppe den Ringschluss unmöglich macht, sofort Permanganat entfärbt. Das reine Glykocoll ist also in saurer Lösung nicht oxydabel. Eine Analogie hierzu bietet das Verhalten des Kreatins und des Kreatinins, welch' letzteres bekanntlich aus ersterem beim Erhitzen entsteht, indem kein Angriff durch Permanganat in saurer Lösung wahrnehmbar war. Für das Kreatinin wird ja eine ringförmige Structur allgemein angenommen,



und diese Auffassung steht in Uebereinstimmung mit der Widerstandsfähigkeit gegen Oxydation unter den von mir angegebenen Bedingungen. Andererseits tritt bei Abwesenheit von Benzoësäure der Stickstoff der Eiweisskörper in seiner Hauptmenge in der normalen Form von Harnstoff aus, denn bei Verfütterung von Glykocoll wird der eingeführte Stickstoff als Harnstoff ausgeschieden. Hierdurch ist dargelegt, dass sich Glykocoll wahrscheinlich in bedeutenden Mengen im Organismus bildet, dass es aber durch die Verbindung mit Benzoësäure vor der Oxydation zu Harnstoff geschützt wird, der es sonst zum allergrössten Theil anheimfällt. Den Grund, warum im Organismus das Glykocoll oxydirt werden kann, während es der

---

1) Beiträge zur Kenntniss der Purinbasen. Von Dr. Adolf Jolles. Journ. f. prakt. Chemie Bd. 62. 1900. — Ueber eine neue, zuverlässige Methode zur quantitativen Bestimmung der Harnsäure im Harn. Von Dr. Adolf Jolles. Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 29 H. 3.

Oxydation mit Permanganat widersteht, erblicke ich darin, dass es im Organismus in dem Momente zur Oxydation gelangt, wo es sich durch Spaltung grösserer Complexe eben bildet, also gleichsam in statu nascendi auftritt, und ich glaube, diese Auffassung durch meine Versuche stützen zu können.

Wie schon erwähnt, zerfällt Hippursäure beim Kochen mit Säuren in Glykocoll und Benzoësäure. Wenn gleichzeitig ein Oxydationsmittel vorhanden ist, so war analog dem Vorgange im Organismus gleichzeitig Bildung und Oxydation zu erwarten.

Thatsächlich wurde auch der gesammte N als Harnstoff wiedergefunden.

Die Vorgänge, bei denen der Eiweisszerfall nur zur Bildung von Hippursäure führt, erklären sich dahin, dass bei den im Organismus herrschenden Bedingungen diese Verbindung nicht zersetzt wird, somit der Benzoësäurerest das Glykocoll vor der Oxydation schützt. Der langsame Verlauf der Oxydation mit Permanganat bestätigt ebenfalls die Annahme, dass zur Oxydation der Hippursäure ihre vorhergehende Spaltung in Glykocoll und Benzoësäure erforderlich ist. Sollte durch physiologische Versuche diese Annahme noch eine weitere Stütze erfahren, so könnte man auf diesem Wege zu einer Erklärung des anscheinend principiell verschiedenen Stickstoffvorkommens im Harn der Pflanzenfresser einerseits und der Fleischfresser andererseits gelangen, ebenso wie die Oxydation der Harnsäure zum Harnstoff eventuell Anhaltspunkte für die Vergleichung der Stickstoff-Ausscheidung bei den Reptilien einerseits und der vorgenannten Thierclassen andererseits darbieten kann.

## I. Experimenteller Theil.

### Beschreibung des Verfahrens.

Eine abgewogene Menge (ca. 0,5 g) Hippursäure wurde in etwa 400 ccm Wasser in einem Becherglase gelöst, zunächst 5 ccm Schwefelsäure (1,84 Dichte) und einige Tropfen Permanganatlösung (8 g  $\text{KMnO}_4$  pro Liter) zugesetzt und auf dem Drahtnetze zum Kochen erhitzt. Zu Beginn wurde nur tropfenweise Permanganatlösung zugesetzt, wobei die durch die ersten Tropfen Permanganat hervorgerufene Färbung nur langsam verschwand. Etwas schneller ging der Oxydationsprocess vor sich, als noch weitere 5 ccm concentrirte Schwefelsäure hinzugefügt wurden. Nach jedesmaliger Ent-

färbung wurden neue Permanganatmengen, und zwar jedes Mal ca.  $\frac{1}{2}$  ccm  $\text{KMnO}_4$ , zugesetzt. Das während des Kochens verdampfte Wasser wurde, sobald ca. die Hälfte der Flüssigkeitsmenge verdampft war, durch destillirtes Wasser ersetzt. Der Zusatz der Permanganatlösung erfolgte so lange, bis der letzte Permanganatzusatz nach ca.  $\frac{1}{2}$  stündigem anhaltendem Kochen der Lösung keine wahrnehmbare Veränderung mehr zeigte, was im vorliegenden Falle erst nach ca. 10 stündigem Kochen erreicht war.

Nach Beendigung des Oxydationsprocesses wurde zunächst der geringe Ueberschuss von Permanganat durch Zusatz von Oxalsäure quantitativ entfernt, die Lösung erkalten gelassen, hierauf mit destillirtem Wasser verdünnt und in einem entsprechenden Becherglase unter Kühlung mit Natronlauge schwach alkalisch gemacht. Das alkalische Oxydationsproduct wurde mit verdünnter  $\text{HCl}$  angesäuert, am Wasserbade erwärmt, bis man eine klare Lösung erhielt, alsdann auf die Hälfte eingedampft, abkühlen gelassen und dann mit alkoholischer Kalilauge genau neutralisirt. Nach einigem Stehen wird der durch den Alkalizusatz entstandene Niederschlag abfiltrirt, mit Alkohol ausgewaschen, und das Filtrat abermals eingedampft, abkühlen gelassen, mit einem bedeutenden Ueberschuss von absolutem Alkohol versetzt und 10—12 Stunden stehen gelassen. Die sich abscheidenden Salze wurden neuerdings filtrirt, der Niederschlag ausgewaschen, das Filtrat eingeeengt, erkalten gelassen, mit Alkohol versetzt, stehen gelassen u. s. w., und dieser Vorgang so oft wiederholt, bis das auf ein Volum von ca. 20—30 ccm eingedampfte Filtrat beim Erkalten absolut keine Salzabscheidung mehr zeigte. — Dieses Ergebniss wurde erst nach 8- bis 10 maligem Alkoholzusatz in der oben beschriebenen Weise erreicht. Das zuletzt erhaltene salzfreie Filtrat wurde mit einem Ueberschuss einer gesättigten ätherischen Oxalsäurelösung versetzt, 24 Stunden stehen gelassen, der Niederschlag auf ein gewogenes Filter gebracht und mit Aether mehrmals gut ausgewaschen, bis das Filtrat keine Spur einer Oxalsäurereaction zeigte. Filter sammt Niederschlag wird am besten im Vacuum bis zum constanten Gewichte getrocknet.

## II. Analytischer Theil.

Für die analytischen Zwecke wurden wiederholt geringe Mengen von chemisch reiner Hippursäure nach obigem Verfahren oxydirt,

die Niederschläge von oxalsaurem Harnstoff gesammelt und bis zum constanten Gewichte getrocknet.

Die Analyse des Oxalates ergab folgende Werthe:

1. 0,2164 g gaben 0,1821 g  $\text{CO}_2$  und 0,0956 g  $\text{H}_2\text{O}$

berechnet für  $(\text{CON}_2\text{H}_4)_2 \cdot \text{C}_2\text{O}_4\text{H}_2$  gefunden

C 22,86 % 23,29 %

H 4,76 % 4,96 %

2. N-Bestimmung nach Kjeldahl.

0,3232 g Substanz gaben 0,0875 g N, entsprechend 27,07 % N.

gefunden 27,07 %

berechnet 26,66 %.

3. Volumetrische N-Bestimmung.

a) 0,1372 g Substanz lieferten 32,82 ccm N bei  $24^\circ$  und 756 mm  
 $B = 36,604 \text{ mg N} = 26,75 \% \text{ N}$ .

b) 0,0675 g Substanz lieferten 16,08 ccm N bei  $24^\circ$  und 752 mm  
 $B = 17,836 \text{ mg N} = 26,42 \% \text{ N}$

gefunden berechnet

a) 26,75 % N 26,66 % N.

b) 26,42 % N

4. In 0,1472 g Substanz wurde die Oxalsäure mit Permanganatlösung titirt (1 ccm  $\text{KMnO}_4 = 0,002257 \text{ g C}_2\text{H}_2\text{O}_4$ ).

Verbraucht wurden 28,2 ccm  $\text{KMnO}_4$ -Lösung  $= 0,0636 \text{ g C}_2\text{O}_4\text{H}_2$ ;

gefunden 43,23 %

berechnet 42,86 %.

Die Analyse des Oxalates lässt wohl keinen Zweifel an der Identität der erhaltenen Verbindung mit dem oxalsauren Harnstoff zu. In jedem Falle ist durch das von mir vorgelegte Material bewiesen, dass ein Körper, der Glykocoll abzuspalten befähigt ist, bei gleichzeitiger Oxydation Harnstoff liefert. Auf die Eiweisskörper, deren Zerfall im Organismus Glykocoll liefert — wie sowohl durch directe Zersetzung, als auch durch Bildung von Hippursäure im Falle der Anwesenheit der anderen Componente, der Benzoësäure, nachgewiesen ist —, lässt sich diese Beobachtung anwenden. Ob nun der betreffende Organismus das Glykocoll weiter oxydirt oder nicht, hängt davon ab, ob Benzoësäure vorhanden ist, die das Glykocoll schützt. Findet aber dieser Schutz nicht statt, so tritt das Glykocoll nur als Zwischenstufe in der Oxy-

dition des Eiweisses auf und wird weiter zu Harnstoff oxydirt. Es ist daher die Annahme nicht unwahrscheinlich, dass bei der Oxydation der Eiweisskörper zu Harnstoff wenigstens zum Theile als Zwischenstadium Glykocoll, eventuell andere Amidosäuren auftreten, die dann im weiteren Verlaufe des Oxydationsprocesses im Organismus in Harnstoff übergehen.

---