

Zur Frage nach dem Chemismus der vitalen Harnstoffbildung.

I. Einleitung.

Von

Wl. Gulewitsch.

Der Redaction zugegangen am 4. August 1900.

Die schon seit langer Zeit existirende Theorie, welche die Harnstoffbildung im Thierorganismus mit der Thätigkeit von Oxydationsprocessen in einen Causalzusammenhang stellt, hat ihre Bedeutung bis jetzt bewahrt, wenn auch nicht in ihrem ganzen Umfange. Während man früher die Harnstoffbildung im Thierorganismus als Process einer rein oxydativen Spaltung von Eiweisskörpern betrachtete und sogar zur Meinung von der Präexistenz des Harnstoffrestes im Eiweiss geneigt war, theilen die neueren Theorien, z. B. Schriedeberg's¹⁾ Anhydridtheorie, auch den anderen Processen, ausser den oxydativen, eine Mitwirkung bei der vitalen Harnstoffbildung zu. Desgleichen erklärt z. B. die von Schultzen und Nencki²⁾ vorgeschlagene Carbaminsäuretheorie in ihrer neueren von Drechsel³⁾ und Nencki⁴⁾ gegebenen Gestalt die Bildung des Harnstoffs im lebendigen Organismus durch die sich abwechselnd abspielenden Oxydations- und Reductionsprocesse.

Die Bedeutung der Oxydationsreactionen für die vitale

1) Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 8, S. 1.

2) Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 2, S. 566.

3) Beiträge zur Physiologie, C. Ludwig zu seinem 70. Geburtstage gewidmet. Leipzig 1886. S. 1.

4) M. Hahn, O. Massen, M. Nencki und J. Pawlow. Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 32, S. 206.

Harnstoffbildung wird vom Standpunkt der neueren Theorien aus noch dadurch beschränkt, dass die meisten von diesen Theorien den Satz zulassen müssen, dass als unmittelbares Material für die Harnstoffbildung auch diejenigen Substanzen dienen können, deren Vorkommen im Organismus nicht unbedingt in einen Zusammenhang mit der oxydativen Spaltung von Eiweisskörpern zu bringen ist. So soll sich z. B. nach Schmiedeberg's Theorie der Harnstoff im Organismus aus Kohlensäure und Ammoniak bilden, wobei das Ammoniak sowohl ein Oxydationsprodukt der stickstoffhaltigen Bestandtheile des Organismus sein, wie auch zum Organismus von aussen her gelangen oder sich bei der hydrolytischen Zerspaltung der Eiweissstoffe der Nahrung durch die Verdauung resp. bei der Hydrolyse der stickstoffhaltigen Bestandtheile des Organismus selbst bilden kann.

Mit dieser Begrenzung aber, welche als unentbehrliches Postulat der neueren Vorstellungen von der vitalen Harnstoffbildung folgt, wird die Hauptmenge des sich im Organismus bildenden Harnstoffs auch zur Zeit (und zwar mit Recht) als Produkt der Einwirkung von oxydativen Processen des Organismus betrachtet. Gerade kürzlich sind noch zwei Beweise für die oxydative Bildung des Harnstoffs im Organismus erbracht worden. Der eine ist die Entdeckung von Oxydasen, durch deren Vermittelung man die Phänomene der vitalen Oxydation zu erklären versucht. Der andere Beweis ist die von Hofmeister¹⁾ gefundene Bildung von Harnstoff bei der künstlichen Oxydation von Eieralbumin und Leim. Bekanntlich war A. Béchamp der Erste, welcher den Harnstoff durch künstliche Oxydation von Eiweiss bekommen haben wollte, doch erwies sich später diese Behauptung von A. Béchamp als eine irrthümliche und vor den Hofmeister'schen Untersuchungen konnte der Harnstoff durch die Oxydation von Eiweissstoffen trotz der zahlreichen Arbeiten in dieser Richtung nicht erhalten werden. Die negativen Resultate früherer Untersuchungen dürften keineswegs gegen die oxydative Bildung von

1) Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 37, S. 435.

Harnstoff im Organismus sprechen, da der Organismus für seine chemische Thätigkeit sicher andere Mittel benutzt als diejenigen, die dem Chemiker in seinem Laboratorium zur Verfügung stehen. Obgleich die Bildung des Harnstoffs in Hofmeister's Versuchen unter Bedingungen erzielt wurde, die von denjenigen jedenfalls verschieden waren, welche im lebenden Organismus Statt haben, füllen diese interessanten Untersuchungen die Lücke auf willkommene Weise aus, die bis jetzt in der Lehre von der oxydativen Bildung des Harnstoffs aus stickstoffhaltigen Bestandtheilen des Organismus vorhanden war.

Wenn wir für die Erklärung der vitalen Bildung des Harnstoffs ausser den rein oxydativen Processen noch die Harnstoffsynthese durch die Einwirkung von Anhydrirungsprocessen und Processen der abwechselnden Oxydation und Reduction anerkennen werden, sind dadurch alle Wege noch nicht aufgezählt, die zur Bildung des Harnstoffs im Organismus führen: es bleibt unter Anderem noch eine Gruppe von Reactionen, die den Harnstoff im Organismus erzeugen können — namentlich die der Reactionen von hydrolytischer Spaltung der stickstoffhaltigen Bestandtheile des Organismus.

Schon seit langer Zeit sind einige Substanzen im Organismus bekannt, z. B. Kreatin, Kreatinin, Oxalursäure u. A., aus denen der Harnstoff durch hydrolytische Spaltung sehr leicht erhalten wird, und unwillkürlich ergibt sich die Vermuthung, dass auch im Organismus ein Theil des Harnstoffs durch die Hydrolyse dieser Verbindungen entsteht. In neuerer Zeit fand Drechsel,¹⁾ dass das sogenannte Lysatin, welches er bei der hydrolytischen Spaltung der Eiweissstoffe entdeckt hat, beim Kochen mit Barytwasser Harnstoff liefert: aus dieser Thatsache zog Drechsel die Folgerung, dass der Harnstoff sich im Organismus auch durch die hydrolytischen Prozesse bilden kann. Die Bedeutung dieser Angabe von Drechsel wurde noch dadurch bekräftigt, dass eine Reihe von höchst interessanten und wichtigen, in dieser Zeitschrift veröffentlichten

¹⁾ Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 23, S. 3096.

Arbeiten von Hedin,¹⁾ A. Kossel,²⁾ Kutscher,³⁾ und E. Schulze⁴⁾ gezeigt hat, dass alle Eiweissstoffe, der hydrolytischen Spaltung durch siedende Mineralsäuren unterworfen, Arginin meistens in einer beträchtlichen Menge liefern; das Arginin aber, wie E. Schulze und Likiernik⁵⁾ gefunden haben, sich beim Kochen mit Barytwasser unter Bildung von Harnstoff zersetzt.

Drechsel (a. a. O.) glaubte sogar, die Menge des Harnstoffs, die sich im Organismus durch die hydrolytische Spaltung der Eiweissstoffe bilden kann, durch Rechnung feststellen zu können. Indem Drechsel die von Schützenberger⁶⁾ bei der Barytspaltung des Eiweisses bestimmte Menge Kohlensäure als Äquivalent für das zuerst abgespaltene Lysin und den daraus hervorgehenden Harnstoff betrachtete, meinte er, dass durch die vitale Hydrolyse der Eiweissstoffe eine Menge Harnstoff entsteht, die 10% der gesamten sich im Organismus bildenden Quantität Harnstoff beträgt. Aber die Gültigkeit einer solchen Berechnung kann aus verschiedenen Gründen bezweifelt werden. Erstens ist es nicht bekannt, ob nicht die Kohlensäuremenge, auf die Drechsel seine Annahme basirte, in einem anderen Spaltungsprodukte der Eiweissstoffe als dem Lysin oder, wollen wir jetzt lieber sagen, dem Arginin ihre Quelle hatte. Zweitens kann man aus Eiweissstoffen eine grössere Menge Arginin bekommen, als nach der von Schützenberger gefundenen Quantität Kohlensäure vorauszusetzen wäre. So beträgt z. B. nach Hausmann's⁷⁾ Bestimmungen der Stickstoff, der bei der Spaltung des Eiweisses durch Mineralsäuren in die durch die Phosphor-

1) Diese Zeitschrift, Bd. XX, S. 186; Bd. XXI, S. 155.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXII, S. 176; Bd. XXV, S. 551. Vgl. auch A. Kossel und F. Kutscher, Sitzungsber. d. Ges. zur Beförd. d. gesamt. Naturw. zu Marburg, Sitzung vom 6. April 1900.

3) Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 195, 551; Bd. XXVI, S. 110.

4) Diese Zeitschrift, Bd. XXIV, S. 276.

5) Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 24, S. 2701.

6) Ann. de chim. et de phys. [5], vol. 16, p. 289; Bull. de la soc. chim. de Paris, vol. 23, p. 161.

7) Diese Zeitschrift, Bd. XXIX, S. 143.

wolframsäure fällbaren Basen übergeht, für das Oxyhämoglobin 23,51^o o, für das Serumglobulin 24,95^o o, für das Globin 29,37^o o, für den Leim 35,83^o o der gesammten Stickstoffmenge, und Arginin macht bekanntlich die Hauptmasse von drei bei der Eiweisshydrolyse zu erhaltenden Hexonbasen: Arginin, Histidin und Lysin. Andererseits aber darf man nicht behaupten, dass die ganze Menge Arginin, die aus dem Eiweiss durch die künstliche Spaltung entsteht, sich auch im Organismus daraus bildet: die Prozesse der vitalen Eiweisszerlegung, sogar die der hydrolytischen, müssen, sowohl qualitativ, wie auch quantitativ, von den Processen der künstlichen Hydrolyse zweifellos verschieden sein. Ausserdem ist es denkbar, dass die durch Kochen der Eiweissstoffe mit Säuren veranlasste Bildung von Arginin unter Atomverschiebung statthat, welche von der sich bei der vitalen Eiweisspaltung abspielenden bedeutend verschieden sein kann. Wenn solche Atomverschiebung schon bei einfacher Spaltung von einfachen Verbindungen, wie z. B. bei der Alkoholgährung der Glucose, beobachtet wird, so ist sie noch leichter möglich bei der hydrolytischen Spaltung von so complicirt zusammengesetzten Körpern, wie es die Eiweissstoffe sind.

Wenn aber die Harnstoffmenge, welche sich im Organismus durch die Hydrolyse der stickstoffhaltigen Bestandtheile bildet, sich zur Zeit auch nicht annähernd ausrechnen lässt, soll jedenfalls die Drechsel'sche Vorstellung über die Möglichkeit dieser Bildungsweise des Harnstoffs als ganz richtig anerkannt werden. Die Produkte der künstlichen hydrolytischen und der vitalen Eiweisspaltung sind einander so ähnlich, dass die Vermuthung ganz gerechtfertigt ist, dass bei der im Organismus statthabenden Eiweisszerlegung eine gewisse Menge Arginin entsteht, welches durch Hydrolyse theilweise in Harnstoff übergeht, der Harnstoffbildung beim Kochen des Arginins mit Barytwasser entsprechend. Es gibt bis jetzt keine experimentellen Beweise dafür, dass ein Theil des Harnstoffs sich im Organismus in der That auf diese Weise bildet, und der Drechsel'schen Ansicht wurde bis jetzt wenig Aufmerksamkeit geschenkt.

Was den Chemismus der vitalen Bildung des Harnstoffs aus Eiweissstoffen durch die Vermittlung von Arginin betrifft, so ist es kaum zu bezweifeln, dass das Arginin im Thierorganismus durch die hydrolytische und nicht durch die oxydative Eiweisspaltung entstehen muss. Darauf weist die Bildung von bedeutenden Argininmengen bei der künstlichen Zersetzung der Eiweissstoffe durch siedende Mineralsäuren bei Gegenwart von reducirenden Mitteln (Zink oder Zinnchlorür) hin. Einige Zweifel könnten hier durch die Untersuchung von Bernert¹⁾ entstehen; der Verfasser hat nämlich bei der Oxydation des Eiweisses mit übermangansaurem Kali unter den Reaktionsprodukten Substanzen gefunden, die nach ihren Eigenschaften eine Aehnlichkeit mit den Hexonbasen, unter Anderen auch mit Arginin, zeigten. Aber wie es aus der Beschreibung des Untersuchungsganges ersichtlich ist, darf man wohl annehmen, dass die von Bernert erhaltenen Hexonbasen ein Hydratations- und kein Oxydationsprodukt waren. Die Möglichkeit der Hydratation bei den Bernert'schen Versuchen wurde durch zwei Bedingungen gegeben: erstens durch die langdauernde, bei Zimmertemperatur stattfindende Einwirkung der bei der Reduction des übermangansauren Kalis gebildeten Kalilauge; dass Albumosen, Peptone und Basen bei seinen Versuchen auf diese Weise gebildet werden konnten, betont der Verfasser selbst.²⁾ Zweitens konnte die Hydratation bei den Bernert'schen Versuchen dadurch verursacht werden, dass der Verfasser die Hexonbasen aus der Lösung isolirte, die Albumosen und Peptone enthielt und die vorher eine längere Zeit mit Schwefelsäure bis zur vollständigen Austreibung der flüchtigen Säuren gekocht wurde; es liegt auf der Hand, dass die Hexonbasen bei diesen Bedingungen unvermeidlich als Spaltungsprodukte von Albumosen und Peptonen durch die Einwirkung der siedenden Säure entstehen mussten.

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXVI, S. 272.

2) L. c., S. 293. Die Untersuchungen von Fr. N. Schulz (diese Zeitschr., Bd. XXIX, S. 102) zeigen, wie stark durch Oxydationsprocess die Fähigkeit des Eiweisses erhöht wird, sogar durch schwach wirkende Agentien hydratirt zu werden.

Für die Erklärung des Chemismus des vermuthlichen Ueberganges von Arginin in Harnstoff im Organismus dürften folgende Processe mitherangezogen werden: durch die Hydrolyse zerfällt das Arginin unter Bildung von Ornithin und Guanidin. Das Guanidin geht ebenfalls hydrolytisch in den Harnstoff über: da der im Arginin sich befindende Guanidinrest bei der künstlichen Hydrolyse leicht in den Harnstoff übergeführt wird, ist die Vermuthung ganz consequent, dass dieselbe Reaction auch im Organismus vor sich gehen kann. Das Ornithin ist eine Diaminosäure. Für die Monoaminosäuren ist durch die Untersuchungen von Schultzen und Nencki,¹⁾ Salkowski²⁾ und v. Knieriem³⁾ die Möglichkeit des Ueberganges im Organismus in Harnstoff bewiesen. Wenn das Ornithin sich den Monoaminosäuren analog im Organismus ebenfalls in Harnstoff verwandelt, kann es als eine α -Diaminoverlensäure keinen Harnstoff durch die einfache Hydratation liefern: sein Uebergang in den Harnstoff, wie auch der der Monoaminosäuren, muss durch mehr complicirte chemische Processe zu Stande kommen.

Man darf weiterhin wohl annehmen, dass mit der Abspaltung des Arginins aus dem Eiweiss und mit dem Uebergang des Arginins in Harnstoff die Betheiligung der Hydratationsreactionen an dem Processe der vitalen Harnstoffbildung nicht erschöpft ist. Es ist noch denkbar, dass nicht nur das Arginin im Organismus durch die Eiweisshydrolyse entsteht, sondern auch der Process der vitalen Eiweisspaltung überhaupt durch die gleichzeitige Einwirkung von Oxydations- und Hydratationsreactionen bewirkt wird. Die Wichtigkeit der Hydratationsprocesse in der chemischen Thätigkeit des Organismus ist offenbar: es ist hinreichend, auf die peptische und tryptische Verdauung, auf die Umwandlung von Polysacchariden in Di- und Monosaccharide, auf die Fettzerspaltung durch die Einwirkung von Steapsin und lipolytischem Ferment des Blutes

1) Zeitschr. f. Biol., Bd. 8, S. 124.

2) Diese Zeitschr., Bd. IV, S. 100.

3) Zeitschr. f. Biol., Bd. 10, S. 279.

hinzuweisen. Auch in dem Chemismus des vitalen Eiweissumsatzes können die Hydratationsprocesse nicht bedeutungslos sein. Die Möglichkeit der hydrolytischen Eiweisspaltung im Organismus wird schon durch die Identität von mehreren als Eiweisszerspaltungsprodukte zu betrachtenden Bestandtheilen desselben¹⁾ mit den Produkten der künstlichen hydrolytischen Eiweisszerlegung angedeutet. Dass die Spaltungsprocesse der complicirten Bestandtheile des Organismus sogar bei Abwesenheit der Oxydationsprocesse statthaben können, zeigen die bekannten Versuche von L. Hermann²⁾ und Bunge,³⁾ die beobachtet haben, dass die überlebenden Muskeln und die Darmparasiten auch in einem sauerstofffreien Raume energische Bewegungen ausführen und Kohlensäure abgeben können: es muss somit bei diesen Versuchen die nicht oxydative Spaltung der complicirten Bestandtheile die in diesen enthaltene potentielle Energie in die kinetische Form übergeführt haben. Desto leichter können die hydrolytischen Spaltungsprocesse bei der gleichzeitigen Oxydation im Organismus verlaufen.

Zur Zeit lässt sich die Frage noch nicht beantworten, in welchem quantitativen und zeitlichen Verhältniss die hydrolytische und die oxydative Eiweisspaltung im Organismus zu einander stehen. Am wahrscheinlichsten dürfte vielleicht die Vermuthung sein, welche die Erscheinungen der vitalen Eiweisszerlegung mit denen der successiven Spaltung und Oxydation der Eiweissstoffe bei der Verbrennung in Parallele stellt: möglicher Weise wird die vitale Eiweisspaltung mit den hydrolytischen Processen begommen, und die mehr oder weniger complicirten Produkte dieser hydrolytischen Zerlegung werden dann oxydirt. Bei dieser Vermuthung könnten die Processe der hydrolytischen Eiweisspaltung das Material für diejenige Form der Harnstoffbildung liefern, welche z. B. an den von aussen in den Organismus eingeführten Produkten der hydrolytischen Eiweisszersetzung (den Aminosäuren) nachzuweisen ist.

¹⁾ Harnstoff, Glycocoll, Amidovaleriansäure, Leucin, Tyrosin, Cystin, Ammoniak.

²⁾ Untersuchungen über den Stoffwechsel der Menschen. Berlin. 1867. S. 62 und 67.

³⁾ Diese Zeitschr., Bd. VIII. S. 48.

Der Entscheidung der Frage nach der Bildung von Harnstoff im Organismus aus Eiweissstoffen durch die Vermittelung von Arginin kann man schon jetzt experimentell näher treten. Zu dem Zwecke sind zuerst zwei Untersuchungsreihen auszuführen. Man muss erstens entscheiden, ob das vorgebildete Arginin als ein normaler Bestandtheil des Thierorganismus vorkommt (in den Pflanzen wurde das Arginin bekanntlich von E. Schulze und Steiger¹⁾ schon vor langer Zeit aufgefunden); zweitens ist es nothwendig, Versuche über den vermuthlichen Uebergang von Arginin in den Harnstoff im Organismus auszuführen.

Die Untersuchungen fehlen bis jetzt in beiden Richtungen, aber einige Betrachtungen lassen schon zur Zeit das Vorkommen des Arginins als eines Bestandtheiles des Organismus erwarten. So kann z. B. das Arginin in den Organismus mit der pflanzlichen Nahrung eingeführt werden. Wie Kutscher²⁾ gezeigt hat, entsteht das Arginin bei der künstlichen tryptischen Verdauung der Eiweissstoffe; zwar dauerte die Digestion von Eiweiss mit der verdauenden Flüssigkeit in den Kutscher'schen Versuchen 12 resp. 40 Tage, doch dürfte man erwarten, dass eine obgleich geringe Argininmenge sich auch unter den im Darmkanal vorhandenen Bedingungen bilden kann. Auch die Erkenntniss, dass die den Vögeln gegebene Benzoesäure und Toluol von ihnen als Ornithursäure, d. h. Dibenzoylornithin, ausgeschieden werden,³⁾ führt nothwendig zu der Vorstellung, dass wenigstens bei den Vögeln bei der Zerspaltung des Eiweisses das Ornithin im Organismus erscheint, und es ist wohl möglich, dass im Organismus nicht nur das Ornithin, sondern auch das Guanidinderivat desselben, d. h. das Arginin, vorkommt.

Von den oben zusammengestellten Erwägungen ausgehend, wollte ich die Vermuthung von der Möglichkeit der vitalen Harnstoffbildung bei der hydrolytischen Eiweisspaltung durch die Vermittelung des Arginins experimentell prüfen. In

1) Diese Zeitschr., Bd. XI, S. 43.

2) Diese Zeitschr., Bd. XXV, S. 195; Bd. XXVI, S. 110.

3) M. Jaffé, Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 10, S. 1925; Bd. 11, S. 406. H. Meyer, *ibid.*, Bd. 10, S. 1930.

dieser Richtung habe ich mit einigen Mitarbeitern gemeinschaftlich eine Reihe von Untersuchungen begonnen. In der folgenden Abhandlung werden die Resultate mitgetheilt, welche bei der Untersuchung über das Vorkommen von Arginin in der Milz erhalten wurden.

Zum Schluss möchte ich darauf hinweisen, dass man wohl nicht annehmen kann, die gesammte täglich producirte Harnstoffmenge entstehe auf einem und demselben Wege. Der Harnstoff soll in allen Geweben und Organen des Organismus, vor Allem aber in der Leber, gebildet werden. Bei der bedeutenden Differenzirung der chemischen Function von verschiedenen Theilen des Organismus ist die Annahme unentbehrlich, dass auch der Chemismus der Zerspaltung von Bestandtheilen desselben und somit der Chemismus der Harnstoffbildung in verschiedenen Geweben und Organen ein verschiedener ist. Man muss sich deshalb an die Vorstellung gewöhnen, dass man bei der Betrachtung des Chemismus der vitalen Harnstoffbildung keine Theorie ausschliesslich vertreten darf, dass vielmehr mehrere von den zur Zeit bekannten Theorien und Hypothesen über die vitale Harnstoffbildung das Recht der gleichzeitigen Existenz haben. Ich halte es für wahrscheinlich, um nicht zu sagen für gewiss, dass die Prozesse der Harnstoffbildung in verschiedenen Organen qualitativ und quantitativ verschieden sind, dass ein Theil des Harnstoffs im Organismus z. B. durch die Eiweisshydrolyse entsteht, ein anderer Theil aus den einfachsten Produkten der Eiweisspaltung durch die Anhydrirung (der Schmiedeberg'schen Theorie entsprechend) aufgebaut wird, dass sich bei der Bildung des dritten Theils des Harnstoffs die Oxydationsprocesse betheiligen (z. B. nach der Hofmeister'schen Theorie), und gleichzeitig mit denselben auch die Reductionsprocesse statthaben können (wie es Drechsel und Nencki annehmen, dass endlich ein Theil des Harnstoffs nach Hoppe-Seyler's Annahme aus der Cyansäure gebildet werden kann u. s. w.: muss doch die allgemeine Mannigfaltigkeit der chemischen Processe des Thierorganismus auch die der Harnstoffbildung miteinschliessen.

Akulowka, den 27. Juli 1900.