

Der Nachweis des Guanidins unter den bei der Selbstverdauung des Pankreas entstehenden Körpern.

Von

Fr. Kutscher und J. Otori.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Marburg.)
(Der Redaktion zugegangen am 21. August 1904.)

In letzter Zeit haben die Vorgänge, die sich bei der Selbstverdauung der Organe abspielen, wesentlich an physiologischem Interesse gewonnen, weil wir annehmen müssen, daß sie sich entweder so, wie wir sie im Reagensglas beobachten können, oder in mehr oder minder modifizierter Form auch während des Lebens abspielen. Besonders geeignet zum Studium dieser Vorgänge ist das Pankreas, da dasselbe reich ist an kräftigen und mannigfaltigen Enzymen, auf deren Wirkung wir die Selbstverdauung der Organe zurückführen.

Bei Untersuchungen, die namentlich von Kutscher über die Einwirkung des Trypsins auf die Eiweißstoffe der Bauchspeicheldrüse angestellt worden sind, hat sich ergeben, daß dieselben, entgegen den Anschauungen Kühnes, sehr schnell vom Trypsin zerstört und in biuretfreie Körper übergeführt werden. Kutscher und Lohmann haben dann neuerlich versucht, die basischen Substanzen, die bei der Selbstverdauung des Pankreas entstehen, sich aber der Beobachtung bisher entzogen hatten, zu gewinnen. Sie untersuchten die «Lysinfraktion» näher und konnten zeigen, daß dieselbe nicht einheitlich ist, sondern neben Lysin reichliche Mengen Cholin enthält. Die Methode, die sie anwandten, ist kurz folgende: Die lebendfrischen Pankreasdrüsen wurden fein gehackt, in Chloroformwasser aufgeschwemmt und der Autodigestion bei 37° C. überlassen, bis die Verdauungsflüssigkeit biuretfrei war. Die Verdauungsflüssigkeit wurde darauf von Phosphaten durch Baryt

befreit und aus ihr nach Kutschers Angaben bei schwach salpetersaurer Reaktion die Alloxurbasen durch Silbernitrat abgeschieden. Die Silbernitratverbindungen der Alloxurbasen wurden abfiltriert. Aus dem Filtrat wurde nach bekannter Methode gleichzeitig Histidin und Arginin durch Silbernitrat und Barythydrat niedergeschlagen. Nach Entfernung dieser Körper ließ sich durch Phosphorwolframsäure aus der Verdauungsflüssigkeit ein Gemenge von Lysin und Cholin ausfällen, aus dem schließlich das Cholin mit Hilfe seiner Doppelverbindungen mit Quecksilberchlorid und Platinchlorid rein dargestellt werden konnte.

Wie aus vorstehendem ersichtlich, wurde als mittlere Fraktion ein Niederschlag gewonnen, der hauptsächlich aus Histidin- und Argininsilber bestehen sollte. Mit diesem Niederschlag, der zum Teil nicht verarbeitet war, haben wir uns im nachfolgenden beschäftigt. Zur weiteren Trennung wurde er in verdünnter Salpetersäure gelöst und nunmehr nach bekannter Methode durch vorsichtigen Zusatz von Barythydrat unter Kontrolle von ammoniakalischer Silberlösung eine Histidin- und Argininfraktion gewonnen.

Verarbeitung der Histidinfraktion.

Die Histidinfraktion wurde zunächst durch Lösen in verdünnter Salpetersäure und Ausfällen mit Ammoniak gereinigt. Die so erhaltenen Silberverbindungen wurden mit überschüssiger Salzsäure zersetzt. Die aus den Silberverbindungen erzeugten Chloride wurden abgedampft, mit Tierkohle entfärbt, auf dem Wasserbade zum Sirup eingeengt und über Schwefelsäure gehalten, bis sich ihr Gewicht nicht mehr änderte.

Das Gewicht der so erhaltenen Masse, die reichlich mit Kristallen von Histidindichlorid durchsetzt war, betrug ca. 5 g. Aus ihr ließ sich durch Zugabe von konzentrierter Salzsäure (sp. Gew. 1,19) und Alkohol das Histidin als Histidindichlorid bis auf Spuren abscheiden. Wir möchten hier noch einschalten, daß das Histidindichlorid in konzentrierter Salzsäure, ganz ähnlich wie die salzsaure Glutaminsäure, kaum löslich ist. Man kann daher auf dem Filter das Histidindichlorid genau wie die

salzsaure Glutaminsäure ohne merklichen Verlust mit konzentrierter Salzsäure auswaschen und so von Verunreinigungen befreien. Die Ausbeute an reinem Histidindichlorid betrug schließlich 2,5 g. Die in Alkohol löslichen Mutterlaugen vom Histidindichlorid wurden durch Abdampfen auf dem Wasserbade von der Hauptmenge der überschüssigen Salzsäure und dem Alkohol befreit, der verbleibende Rückstand wurde über Schwefelsäure und Kalistücken gehalten, bis er keine Salzsäure mehr abgab. Danach wurde er mit wenig Wasser aufgenommen, die wässrige Lösung wurde nach den Angaben Steudels¹⁾ mit alkoholischer Pikrolonsäure ausgefällt. Es wurde so ein Pikrolonat erhalten, das in Alkohol und kaltem Wasser kaum löslich war. Auch in heißem Wasser löste es sich schwer und kristallisierte daraus beim Erkalten in glänzenden, gelben, makroskopischen Nadeln. Erhitzte man das erhaltene Pikrolonat im Schmelzröhrchen langsam, dann zersetzte es sich unter Feuererscheinung mit schwachem Knall bei 339° C. ganz scharf, nachdem es sich bei 325° C. zu schwärzen begonnen hatte. Bei schnellem Erhitzen konnte der Explosionspunkt wesentlich höher (bis zu 360° C.) steigen. Notwendig für die Explosion ist die Überführung der gelben in die dunkle Verbindung, die sich langsam vollzieht. Aus diesem Grunde kommt man nur bei langsamem Erhitzen zu einem scharfen Explosionspunkt. Die Ausbeute an diesem Pikrolonat hatte ca. 5 g betragen. Wir haben nur Stickstoffbestimmungen davon ausgeführt. Dieselben folgen hier.

1. 0,1898 g Substanz gaben 29,8 ccm N, T. = 17,2° C., Ba. = 747 mm.

Daraus berechnen sich 17,61% N.

2. 0,1898 g Substanz gaben 30 ccm N, T. = 17,5° C., Ba. = 746 mm.

Daraus berechnen sich 17,67% N.

Diese Substanz enthält also im Mittel 17,64% N.

Die Hauptmasse des Pikrolonates wurde nach Steudels²⁾ Angaben mit Schwefelsäure zersetzt, die Pikrolonsäure durch Äther entfernt. Aus dem Rückstand wurde die Schwefelsäure durch Baryt, der überschüssige Baryt durch Kohlensäure ab-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVII, S. 219.

²⁾ l. c.

geschieden. Wir vermuteten in der so von den verschiedenen Reagentien befreiten Flüssigkeit nun eigentlich eine freie Base. Nach dem Abdampfen hinterblieb aber nur ein geringer, stark barythaltiger Rest, der durchaus nicht der Masse des zersetzten Pikrolonates entsprach. Derselbe gab keinen Niederschlag mit Phosphorwolframsäure, wohl aber mit Silbernitrat einen kristallinen Niederschlag vom Aussehen des lävulinsäuren Silbers. Zur Analyse reichte die Silberverbindung nicht. Da auch der Stickstoffwert des Pikrolonates zu einem Körper paßt, welcher neben zwei Molekülen Pikrolonsäure ein Molekül Lävulinsäure enthält und das Auftreten von Lävulinsäure nach unserer Arbeitsmethode sich in der Histidinfraktion wohl annehmen ließ, haben wir versucht, reine Lävulinsäure mit Pikrolonsäure zu verkuppeln. Das ist uns aber bisher nicht gelungen.

Ob daher das obige Pikrolonat wirklich eine Verbindung der Lävulinsäure mit Pikrolonsäure darstellt, diese Frage müssen wir zur Zeit offen lassen. Jedenfalls handelte es sich um die Verbindung einer stickstoffarmen oder stickstofffreien Säure, die wahrscheinlich ebenfalls in Äther löslich ist und die wir bei unseren Bemühungen, sie von der Pikrolonsäure zu befreien, gleichzeitig mit der Pikrolonsäure der Hauptmasse nach in den zum Ausschütteln benutzten Äther brachten. Nur so können wir die geringe Ausbeute, die wir von ihr erhielten, ungezwungen erklären.

Die Mutterlauge des geschilderten Pikrolonates wurde durch Abdampfen vom Alkohol befreit, darauf mit Wasser aufgenommen, mit Schwefelsäure angesäuert, ausgeäthert. Die wässrige Lösung wurde mit Baryt von der Schwefelsäure, mit Kohlensäure vom überschüssigen Baryt frei gemacht und auf ein kleines Volumen gebracht. Es kristallisierte nunmehr in kleinen Kugeln eine Substanz, die vielleicht Uracil war. Die Ausbeute daran gestattete nur einige qualitative Reaktionen. Sie sublimierte schwierig, war ziemlich schwer in Wasser löslich und ließ sich aus ihrer wässrigen Lösung durch Silbernitrat und eine Spur Ammoniak niederschlagen. Die Silberverbindung war leicht löslich in überschüssigem Ammoniak sowie in Salpetersäure. Im offenen und geschlossenen Schmelzröhrchen

schmolz sie bei 322° C., während Uracil nach den Angaben von E. Fischer und G. Rolder¹⁾ bei 335° C. schmelzen soll. Zur Analyse reichte die Menge nicht hin. Nach der Kristallisation dieser Substanz verblieb als Rest eine geringe Menge eines schmierigen Sirups, der weiterer Bearbeitung sich nicht zugänglich erwies.

Es hatte sich demnach die Histidinfraktion bis auf einen geringen Rest in gut kristallisierende Körper auflösen lassen. Die Hauptmasse darin bestand aus Histidin und einer wahrscheinlich stickstofffreien Säure, daneben fand sich vielleicht etwas Uracil.

Die Aufteilung der Argininfraktion.

Die Silberverbindungen der Argininfraktion wurden in verdünnter Schwefelsäure gelöst, durch Schwefelwasserstoff aus der Lösung das Silber, durch Baryt die Schwefelsäure, durch Kohlensäure der überschüssige Baryt entfernt. Nach dem Eindampfen und Aufbewahren im Exsikkator trockneten die kohlen-sauren Basen schließlich zu einem durchsichtigen, schwach gelbgefärbten Lack ein. Das Gewicht desselben betrug ca. 9 g. Nun kristallisiert bekanntlich freies und kohlen-saures Arginin in reinem Zustande sehr leicht. Das abweichende Verhalten des von uns dargestellten mußte durch Beimengung anderer Körper bedingt sein. Um dieselben zu gewinnen, benutzten wir auch hier die Pikrolonsäure. Reines Arginin liefert nach Steudel²⁾ mit Pikrolonsäure eine Verbindung, die in Alkohol so gut wie unlöslich ist. Wir nahmen also den oben beschriebenen Lack in wenig Wasser auf und fällten nach den Angaben Steudels mit alkoholischer Pikrolonsäure. Die reichliche Fällung wurde abgesaugt, mit Alkohol gewaschen und nach Steudel mit Schwefelsäure zersetzt. Aus der schwefelsauren Flüssigkeit wurde nach Entfernung der Pikrolonsäure durch Äther, durch Baryt etc. die kohlen-saure Base dargestellt. Dieselbe kristallisierte nunmehr sofort nach dem Ein-

¹⁾ Berichte d. deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. 34, S. 3761.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVII, S. 219.

engen. Es wurden gewonnen 4 g kristallinischer Masse. Doch lag, wie eine Stickstoffbestimmung zeigte, noch nicht ganz reines Arginin vor. Die Stickstoffbestimmung der bei 120° C. getrockneten Substanz gab folgenden Wert:

0,0923 g Arginin gaben 25,8 ccm N. T. = 17° C., Ba. = 737 mm.

Daraus berechnen sich: 28,43% N.

Für $C_6H_{14}N_4O_2$ berechnet: 32,18% N.

Was für ein Körper dem Arginin beigemischt war, vermögen wir nicht zu sagen. Man wird aber wohl Aufschluß darüber erhalten, wenn man dieses Arginin über seine schwerlösliche Kupferverbindung weiter reinigt.

Aus der Mutterlauge vom Argininpikrolonat wurde der Alkohol verdampft, der Rückstand durch Schwefelsäure und Äther von Pikrolonsäure befreit und schließlich aus ihm mit Hilfe von Baryt etc. die kohlensauren Basen dargestellt. Während das Ausgangsmaterial vor der Fällung mit Pikrolonsäure keinen Niederschlag mit Pikrinsäure oder Natriumpikrat gegeben hatte, gab die vom Arginin befreite wässrige Lösung der verbliebenen Basen sowohl mit Pikrinsäure als auch mit Natriumpikrat einen starken kristallinen Niederschlag. Diese Erscheinung ließ sich nur erklären, wenn man annahm, daß durch das Arginin vorher die Bildung des Niederschlages verhindert war. Wir werden auf diese Verhältnisse später genauer eingehen. Nachdem wir uns von dem Vorhandensein einer Base, die ein schwerlösliches Pikrat bildete, überzeugt hatten, fällten wir dieselbe mit wässriger Pikrinsäure aus. Die Ausbeute an diesem Pikrat betrug 7 g. Analyse und Zersetzungspunkt zeigten, daß Guanidin-pikrat vorlag. Namentlich ist das Verhalten des Guanidin-pikrates im Schmelzröhrchen sehr charakteristisch. Es gestattet eine leichte Identifizierung desselben. Reines Guanidin-pikrat, aus Guanidinkarbonat (Kahlbaum) gewonnen, verhielt sich folgendermaßen. Bei 280° C. begann es sich allmählich zu schwärzen, bei 300° C. setzte eine schwache Sublimation ein, die sich dadurch merkbar machte, daß am Thermometer und Reagensglas ein leichter gelber Beschlag erschien, zwischen 311—315° fand schließlich heftige Zersetzung unter Aufschäumen der Masse statt. Dabei wurden gleichzeitig reichlich gelbbraune

Dämpfe ausgestoßen, die sich am Reagensglas und Thermometer niederschlugen und hier feine Kristalle nach dem Erkalten des Apparates bildeten. Bei schnellem Erhitzen kann der Zersetzungspunkt höher liegen (bis 320°C). In diesem Umstand ist auch wohl die Ursache zu suchen, warum von Winterstein¹⁾ der Zersetzungspunkt des Guanidinpikrates zu $316\text{--}318^{\circ}\text{C}$. angegeben wurde. Das von uns aus der Verdauungsflüssigkeit isolierte Pikrat verhielt sich genau wie das aus Guanidinkarbonat dargestellte. Es zersetzte sich bei 313°C .

Analytische Belege.

1. Guanidinpikrat aus der Verdauungsflüssigkeit:

0,1960 g Substanz gaben 51,2 ccm N, T. = 14°C ., Ba. = 747 mm.

Daraus berechnen sich 29,82% N.

Guanidinpikrat enthält 29,2 % »

2. Guanidinpikrat aus Guanidinkarbonat «Kahlbaum»:

0,1958 g Substanz gaben 50,7 ccm N, T. = $14,2^{\circ}\text{C}$., Ba. = 743 mm.

Daraus berechnet man: 29,71% N.

Leider verläuft die Isolierung des Guanidins nicht immer so glatt, wie wir es im vorstehenden geschildert haben, sondern, wie wir jetzt wissen, nur ausnahmsweise, denn es gehen fast immer in die «Guanidinfraktion» Körper, die in noch höherem Maße als das Arginin das Vermögen besitzen, das Ausfallen des Guanidinpikrates zu verhindern. Wir werden später darauf eingehen.

Nach der Abscheidung des Guanidinpikrates untersuchten wir das Filtrat davon näher daraufhin, ob nunmehr alle Basen daraus entfernt seien. Das war nicht der Fall. Wir vermochten daraus schließlich einen stark basisch reagierenden Rest zu gewinnen, der aber nicht in analysierbare Form zu bringen war.

Zur Illustrierung der Schwierigkeiten, mit denen die Darstellung des Guanidins meist verbunden ist, möge folgender Versuch etwas näher geschildert werden. Durch Herrn Dr. Lohmann war nach der bekannten Methode Kossels aus größeren Mengen Verdauungsflüssigkeit das kohlensaure «Arginin» dargestellt. Dasselbe präsentierte sich ebenfalls als gelber durchsichtiger Lack, der sich auf keine Weise zur Kristallisation bringen

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVI, S. 36.

ließ. Seine Menge betrug 26 g. Wir haben ihn nach vorstehend geschildeter Methode weiter verarbeitet. Das aus dem Pikrolonat gewonnene Arginin kristallisierte sofort in festen strahligen Massen. Als wir die «Guanidinfraktion» aber nach obigem Schema verarbeiten wollten, erhielten wir mit wässriger Pikrinsäure eine milchige Trübung, mit Natriumpikrat zunächst überhaupt keine Fällung. Wir entfärbten nunmehr mit Tierkohle. Nach dieser Behandlung ließ die Flüssigkeit mit Natriumpikrat sofort einen kristallinen Niederschlag fallen, das Verhalten gegen wässrige Pikrinsäure war das alte geblieben. Wir fällten zunächst die ganze Masse mit Natriumpikrat aus. Das gewonnene Pikrat war Guanidinpikrat, wie Analyse und Zersetzungspunkt erwies. Die Ausbeute betrug aber nur 0,85 g. Wir lassen die Analyse folgen. Der Zersetzungspunkt lag bei 313° C.

0,1306 g Substanz gaben 33,8 ccm N. T. = 17° C., Ba. = 746 mm.
Daraus berechnen sich 29,12% N; Guanidinpikrat verlangt 29,20% N.

Das Filtrat von dem durch Natriumpikrat erzeugten Niederschlag versetzten wir mit heiß gesättigter wässriger Pikrinsäure. Es bildete sich darin eine starke milchige Trübung. Wir fügten heiße Pikrinsäurelösung so lange zu, bis in einer Probe durch kalt gesättigte, wässrige Pikrinsäurelösung eine Verstärkung der Trübung nicht mehr hervorgerufen wurde. Aus der so behandelten Flüssigkeit schied sich langsam, während die Flüssigkeit sich klärte, eine beträchtliche Menge eines Sirups ab, der allmählich kristallinisch wurde. Bei unseren Versuchen, die gebildeten Kristalle aus heißem Wasser umzukristallisieren, schieden sie sich zuerst immer wieder ölig ab, um dann allmählich kristallinisch zu werden. Wir haben sie deshalb nicht der Analyse unterworfen. Von einer Reinigung mit Tierkohle mußten wir Abstand nehmen, weil durch die Tierkohle viel Guanidinpikrat zurückgehalten wird. Wir haben auch Versuche gemacht, das Guanidin über die Golddoppelverbindung oder über das salpetersaure Guanidin zu reinigen. Die Resultate waren aber wenig befriedigend. Vielleicht eignet sich eine Verbindung des Guanidins mit Cadmiumchlorid besser. Dieselbe ist von Herrn Dr. Schenck¹⁾ dargestellt und näher untersucht worden. Uns gelang es, mit

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLIII, S. 72.

ihrer Hilfe aus dem verschmierten Pikrat etwas reines Guanidincadmiumchlorid zu gewinnen. Die Analyse der Cadmiumverbindung gab folgenden Wert:

0,1394 g Substanz lieferten 12,6 ccm N. T. = 18,5°, Ba. = 752 mm.

Demnach enthielt der Körper 9,66% N.

Guanidincadmiumchlorid verlangt 9,1 %

Was für Substanzen es sind, die hier so außerordentlich ungünstig auf die sonst leicht kristallisierenden Guanidinverbindungen einwirken, vermögen wir nicht zu sagen. Dagegen haben wir mit Sicherheit für das Arginin nachweisen können, daß dieses imstande ist, die Ausfällung des schwerlöslichen Guanidinpikrates zu verhindern. Wir benutzten für unsere Versuche ein Arginin, das aus analysenreinem Argininsilbernitrat dargestellt war. Wir lassen die Analysen folgen:

1. 0,6384 g des sauren Argininsilbernitrats gaben 0,1678 g Silber.

Daraus berechnen sich 26,28% Ag. Berechnet: 25,96% Ag.

2. 0,1154 g des freien Arginins gaben 33,1 ccm N. T. = 19° C., Ba. = 750,5 mm.

Daraus berechnen sich 32,10% N.

Arginin enthält 32,18%

Der Zersetzungspunkt der Base lag bei 210° C., Gulewitsch¹⁾ gibt denselben zu 207° C. an.

Versuch I. 1 ccm einer 0,2%igen Lösung von Guanidinkarbonat wurde mit 1 ccm einer 1%igen Lösung von Argininkarbonat versetzt und darauf wässrige Pikrinsäurelösung zugefügt. Die Lösung blieb zunächst klar. Nach 15 Minuten begann eine geringe Kristallisation.

Versuch II. 1 ccm einer 0,2%igen Lösung von Guanidinkarbonat wurde mit 2 ccm einer 1%igen Lösung von Argininkarbonat versetzt und darauf wässrige Pikrinsäurelösung zugefügt. Die Lösung blieb klar. Erst nach 48 Stunden waren geringe körnige Kristallmassen abgeschieden.

In den Kontrollproben hatten Guanidinlösungen von gleicher Konzentration auf Zugabe von wässriger Pikrinsäure sofort einen reichlichen Niederschlag gegeben.

Ohne weiteres geht aus unseren Versuchen hervor, daß das Guanidin sich gegen Silbernitrat und Barythydrat wie das

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXVII, S. 179.

Arginin verhalten muß, denn sonst hätten wir es ja nicht in der «Argininfraktion» auffinden können. Das Guanidin bildet nun in der Tat eine Silberverbindung, die in vielfacher Hinsicht weitgehende Ähnlichkeit mit dem Argininsilber zeigt. Mit dieser Verbindung haben wir uns wegen der Wichtigkeit, die sie für die Isolierung des Guanidins besitzt, eingehender beschäftigt.

Das Guanidinsilber.

Das Guanidinsilber ist zuerst von Thiele¹⁾ dargestellt worden. Thiele schreibt darüber: «Gelegentlich erwähnte ich, daß Guanidin sich mit Silber verbindet. Man erhält die Verbindung als weißen, flockigen Niederschlag, wenn man gleiche Moleküle Guanidinnitrat und Silbernitrat mit etwas weniger als einem Molekül Barythydrat fällt. Der Niederschlag ist leicht löslich in Säuren und Ammoniak und bildet vacuumtrocken ein graugelbes Pulver von der Zusammensetzung $\text{CH}_5\text{N}_3\text{Ag}_2 + \text{H}_2\text{O}$ resp. $\text{CH}_5\text{N}_3 + \text{Ag}_2\text{O}$.» Diese Angaben Thieles können wir in einigen wesentlichen Punkten ergänzen. Wir stellten das Guanidinsilber so dar, daß wir Guanidinkarbonat in Wasser lösten, die Flüssigkeit mit Salpetersäure ansäuerten, Silbernitratlösung zfügten, bis eine Probe, in gesättigtes Barytwasser gebracht, schwach braun gefärbt ausfiel. Wir fügten jetzt der Flüssigkeit noch etwas Guanidinkarbonat zu, fällten mit Barytwasser, solange durch dasselbe ein Niederschlag erzeugt wurde. Der Niederschlag besaß alle Eigenschaften, die Thiele dem Guanidinsilber zuschreibt. Wir machten aber an ihm folgende Beobachtung, die uns nicht ohne Interesse erschien. Stellt man den Niederschlag, ohne abzufiltrieren, ruhig an einen dunklen Ort, dann treten am dritten bis vierten Tage in den amorphen Massen kleine Drusen von langen, weißen, silberglänzenden Nadeln auf. Im Laufe von 3—4 Wochen wandelt sich schließlich der gesamte Niederschlag in schöne, etwas graugefärbte, lange Nadeln um.

Die kristallinische Modifikation des Guanidinsilbers hat die gleiche Zusammensetzung wie das amorphe Guanidinsilber

¹⁾ Liebigs Annalen, Bd. 302, S. 334.

(Analysen siehe S. 104). Auch sein Verhalten gegen Säuren und Ammoniak ist dasselbe. In Wasser ist es kaum löslich. Wir haben es mehrere Tage in Wasser aufgeschwemmt gehalten. Das Filtrat von den ungelösten Kristallen gab mit Salzsäure nur eine opalescente Trübung, aber keinen merkbaren Niederschlag. Die Verbindung ist stark explosibel und eine direkte Silberbestimmung darin deshalb unmöglich.

Thiele hat die Formel des Guanidinsilbers offen gelassen. Wir haben versucht, dieselbe an dem kristallinischen Guanidinsilber festzulegen. Zu diesem Zweck wurde ein Teil im Vacuum über Schwefelsäure stark erhitzt. Es begann erst bei 170° C. unter gleichzeitiger starker Verfärbung, die eine Zersetzung anzeigte, an Gewicht zu verlieren. Nach diesem Verhalten scheint uns die Formel $\text{CH}_5\text{N}_3 + \text{Ag}_2\text{O}$ die richtige zu sein.

Wegen seiner Unlöslichkeit in Wasser, die auch der amorphen Modifikation zukommt, ist das Guanidinsilber namentlich im Verein mit der Methode von Emich¹⁾ besonders geeignet zur quantitativen Gewinnung des Guanidins. Wir haben in dieser Richtung folgenden Versuch gemacht. 0,4974 g Guanidinkarbonat wurden in Wasser gelöst, mit Salpetersäure angesäuert, Silbernitratlösung im Überschuß zugefügt und die Flüssigkeit mit festem Barythydrat gesättigt. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und salpetersäurefrei gewaschen. Filtrat + Spülwasser betragen 200 ccm. Darauf wurde der Niederschlag mit verdünnter Schwefelsäure aufgenommen, das Silber durch Schwefelwasserstoff abgeschieden, das Filtrat vom Schwefelsilber mit Natronlauge neutralisiert, auf ein kleines Volumen gebracht und mit Natriumpikratlösung ausgefällt. Die Ausbeute an Guanidinpikrat betrug 1,5244 g, das ist 95,77% der berechneten Menge. Der Schmelzpunkt des Guanidinpikrates lag bei 315° C. Von Emich²⁾ wurden bei Versuchen, in denen er direkt Guanidin mit Pikrinsäure ausfällte, ca. 94% des angewandten Guanidins als Pikrat wieder gewonnen.

¹⁾ Monatshefte f. Chem., 1891, S. 23.

²⁾ l. c.

Das Guanidintannat.

Außer dem Guanidinsilber haben wir noch das Guanidintannat daraufhin untersucht, ob es sich zur quantitativen Gewinnung des Guanidins eignet. Guanidinkarbonat bildet, was bisher nicht bekannt zu sein scheint, mit Tannin in nicht zu verdünnter Lösung einen weißen, flockigen, bald körnig werdenden Niederschlag, der in Wasser schwer, in überschüssigem Tannin sehr leicht löslich ist. Doch eignet sich, wie folgender Versuch zeigt, diese Verbindung weit weniger zur quantitativen Darstellung des Guanidins, wie das Guanidinsilber. Es wurden 0,5033 g Guanidinkarbonat in wenig Wasser gelöst und mit Tanninlösung unter Vermeidung eines Überschusses ausgefällt. Die reichliche Fällung wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und mit überschüssiger Barytlösung sorgfältig verrieben. Das Baryumtannat wurde abfiltriert, im Filtrat der überschüssige Baryt durch Kohlensäure entfernt. Nach dem Einengen, Entfärben mit Tierkohle etc. wurde mit Natriumpikrat gefällt. Wir erhielten 0,4612 g Guanidinpicrat, d. h. nur 28,63% der berechneten Menge Guanidin wieder. Trotz dieses Ausfalls unseres Versuches mag das Guanidintannat sich doch in Fällen, wo es sich nicht um die quantitative Gewinnung des Guanidins handelt, mit Vorteil benutzen lassen. Wir möchten an dieser Stelle noch einschalten, daß sich das Arginin- und Lysin-karbonat ganz ähnlich wie das Guanidinkarbonat gegen Tannin verhalten. Auch sie werden in nicht zu verdünnter Lösung durch Tannin in Form weißer Flocken gefällt, die sich in Wasser schwer, im überschüssigen Tannin leicht lösen und sich durch Baryt zersetzen lassen.

Analytische Belege.

1. 0,1280 g kristallinisches Guanidinsilber gaben 0,1266 g AgCl; also
74,44% Ag.
Berechnet für $\text{CH}_5\text{N}_3 + \text{Ag}_2\text{O}$: 74,23% Ag.
2. 0,1336 g Substanz gaben 18 ccm N, T. = 18° C., Ba. = 748 mm.
Daraus berechnen sich: 14,62% N
Berechnet für $\text{CH}_5\text{N}_3 + \text{Ag}_2\text{O}$: 14,43% N

Das kristallinische Guanidinsilber explodiert heftig unter lebhafter Feuererscheinung bei 303–305° C.

Das Harnstoffsilber.

Wegen der weitgehenden Ähnlichkeit, die zwischen den Verbindungen des Imidoharnstoffs und Harnstoffs besteht, haben wir auch das Harnstoffsilber näher untersucht. Dasselbe ist zuerst von Mulder¹⁾ dargestellt und sehr gut beschrieben worden. Mulder erhielt es, indem er auf Harnstofflösung Silbernitrat und verdünnte Natronlauge einwirken ließ, als gelblichen, amorphen, voluminösen Niederschlag, der bald nach seinem Entstehen konsistenter und damit gut filtrierbar wurde. Wir haben dasselbe erzeugt, indem wir einer Harnstofflösung Silbernitrat in einer Menge zufügten, daß auf ein Molekül Harnstoff zwei Moleküle Silbernitrat kamen. Die Umsetzung bewirkten wir durch vorsichtige Zugabe von Barytwasser. Es fiel darauf zunächst genau, wie es Mulder angibt, ein voluminöser gelblicher Niederschlag. Derselbe wurde, um mit Mulder zu sprechen, im Laufe von 1—3 Stunden konsistenter. Er änderte dabei gleichzeitig seinen Farbenton, der aus gelb in weiß umschlug. Die mikroskopische Untersuchung klärte uns über die Ursache dieses Vorganges auf; es zeigte sich nämlich, daß der amorphe gelbe Niederschlag sich in die weiße Modifikation umwandelte, wenn er aus dem amorphen in den kristallinen Zustand überging. Diese Umwandlung vollzieht sich im Gegensatz zum Guanidinsilber fast immer sehr schnell, sie ist, wie gesagt, meist bereits nach 1—3 Stunden vollendet. Die kristallinische Modifikation des Harnstoffsilbers besteht aus mikroskopischen, kleinen, besenartig vereinigten Nadeln. Das Verhalten des Harnstoffsilbers ist recht charakteristisch und wohl geeignet zur Identifizierung des Harnstoffs. Das kristallinische Harnstoffsilber ist in Wasser wohl schwer, doch nicht so unlöslich wie das Guanidinsilber, durch Salpetersäure und Ammoniak wird es leicht gelöst. Ihm kommt jedenfalls die Formel $\text{AgNH} \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{Ag}$ zu. Eine Silberbestimmung paßte zu obiger Formel.

0,1540 g vacuumtrockener Substanz gaben 0,121 g = 78,55% Ag.

Obige Formel verlangt 78,84% Ag.

¹⁾ Berichte der deutsch. chem. Ges., Bd. VI. S. 1019.

Wir haben des weiteren einige Versuche angestellt, die darauf ausgingen, zu erfahren, ob man den Harnstoff bei einer dem Guanidin analogen Behandlung quantitativ niederschlagen kann. Das ist nicht der Fall.

Versuch I. 1,006 g Harnstoff wurden in Wasser gelöst, mit überschüssiger Silbernitratlösung versetzt und die Flüssigkeit mit Barythydrat gesättigt. Der Niederschlag wurde nach 12 Stunden abgesaugt und salpetersäurefrei gewaschen. Filtrat + Spülwasser betrug 100 ccm. Er wurde darauf nach Kjeldahl verascht. Das gebildete Ammoniak wurde schließlich als Ammonchlorid gewogen. Es wurden gewonnen 0,4116 g Ammonchlorid. Demnach waren im Niederschlag vorhanden 23,06% der berechneten Menge Harnstoff.

Versuch II. 1,000 g Harnstoff wurde wie oben behandelt. Filtriert wurde nach 24 Stunden. Filtrat + Spülwasser betrug 120 ccm. Es wurden 0,929 g Ammonchlorid gewonnen. Demnach waren im Niederschlag vorhanden 52,09% der berechneten Menge.

Versuch III. 1,000 g Harnstoff wurde wie oben behandelt. Filtriert wurde nach 36 Stunden. Filtrat + Spülwasser betrug 125 ccm. Es wurden 0,8854 g Ammonchlorid gewonnen. Demnach waren im Niederschlag vorhanden 49,65% der berechneten Menge.

Durch Modifikation der Versuchsbedingungen werden sich die Ausbeuten wahrscheinlich wesentlich günstiger gestalten lassen. Auf keinen Fall gelingt es aber, das Harnstoffsilber, das nach Mulder auch gegen verdünnte Natronlauge widerstandsfähig ist, durch überschüssiges Barytwasser ganz zu zersetzen, wie unsere quantitativen Versuche lehren. Wahrscheinlich wird sogar das Harnstoffsilber durch Barytwasser überhaupt nicht angegriffen und die Ursache, warum wir nicht die berechnete Ausbeute erhielten, ist darin zu suchen, daß wir, um die Salpetersäure zu entfernen, energisch auswaschen mußten, das Harnstoffsilber in Wasser aber nicht ganz unlöslich ist. Doch spielen wohl auch noch andere Ursachen eine Rolle (s. Mulder l. c.), die eine quantitative Ausfällung des Harnstoffsilbers verhinderten.

Versuchen wir, das von uns gefundene Guanidin auf bestimmte Muttersubstanzen zurückzuführen, dann stoßen wir auf ziemlich komplizierte Verhältnisse. Bekanntlich werden bei der Selbstverdauung des Pankreas nicht nur die Eiweißstoffe, sondern auch die Nucleinsäuren durch das Trypsin in einfache Körper zerlegt. Dabei kann, wenn wir die Versuche von Otori in Betracht ziehen, aus den Eiweißstoffen aus einem bisher nicht bekannt gewesenen Guanidinkern entweder direkt hydrolytisch Guanidin abgespalten werden, oder aber es kann als unmittelbare Muttersubstanz des Guanidins aus den Eiweißstoffen zunächst Arginin, aus den Nucleinsäuren Guanin hervorgehen. Sowohl das Arginin wie das Guanin verhalten sich gegen Permanganate insofern gleichartig, als aus ihnen durch diese Oxydationsmittel leicht und reichlich Guanidin abgespalten wird.

Daran, daß unser Guanidin durch Enzymwirkung entstanden ist, ist nicht zu zweifeln. Ist es aber nun direkt durch ein hydrolytisch spaltendes Enzym aus einem besonderen Guanidinkern hervorgegangen, oder ist es erst aus dem Arginin resp. Guanin der Nucleinsäuren entstanden, indem durch eine Oxydase, die nach Art der Permanganate arbeitet, die genannten Körper zerlegt wurden? Diese Frage müssen wir vorläufig offen lassen.

Die physiologische Bedeutung unseres Befundes ist hauptsächlich darin zu suchen, daß nach ihm das Auftreten des Guanidins im Stickstoffstoffwechsel mehr als wahrscheinlich wird. Das Schicksal des gebildeten Guanidins kann nun ein dreifaches sein. Es kann neben Harnstoff mit dem Harn als Endprodukt des Stickstoffstoffwechsels ausgeschieden, oder es kann im Organismus durch Enzyme, die wie siedendes Barytwasser wirken, in Harnstoff übergeführt werden.¹⁾ Oder es könnte schließlich zur Bildung von Kreatin, dessen Entstehungsweise und Zweck im Organismus uns noch völlig rätselhaft sind, verwandt und auf solche Weise unschädlich gemacht werden. Von diesen Annahmen scheinen die erste und die zweite durch eingehende Versuche Pommerenigs²⁾ widerlegt zu sein.

¹⁾ Ein derartiges Enzym ist kürzlich durch Kossel und Dakin (Diese Zeitschrift, Bd. XLI, S. 321) beschrieben worden. Das Guanidin wäre dann als eine Vorstufe des Harnstoffs aufzufassen.

²⁾ Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol., Bd. 1, S. 561.

Nachdem sich aber gezeigt hat, wie leicht das Guanidin durch andere Substanzen maskiert wird, ist es uns doch fraglich geworden, ob es nicht ein regelmäßiger Bestandteil des Harns ist. Die dritte Annahme hingegen, die Pommerenig ebenfalls bereits erörtert, hat er weder bestätigen, noch widerlegen können. Ziehen wir jedoch in Betracht, daß gerade die Muskeln, die unfähig sind, die Vorstufen des Harnstoffs in Harnstoff überzuführen, und vermutlich auch Enzyme wie die Arginase vermissen lassen, besonders reich an Kreatin sind, so scheint uns die Voraussetzung, das ungiftige Kreatin sei hier aus dem giftigen intermediär gebildeten Guanidin hervorgegangen, nicht ganz unbegründet.
