

XXIII.

Arbeiten aus dem pharmak. Institut der deutschen Universität zu Prag.

52. Ueber Bildung des Harnstoffes durch Oxydation.

Von

Franz Hofmeister.

I. Entwicklung der Lehre von der Bildung des Harnstoffes.

Die Lehre von der Harnstoffbildung im Thierkörper lässt in ihrer geschichtlichen Entwicklung 2 Versuchsrichtungen hervortreten, denen wir unsere einschlägigen Kenntnisse verdanken, den Versuch am Thiere, welcher bestimmt war, die Stoffe kennen zu lernen, die in den Organismus eingeführt, hier zur Entstehung des Harnstoffes führen, sodann das chemische Experiment, welches durch Nachahmung des vitalen Vorganges dessen chemischen Charakter klarstellen sollte.

Sobald sich die Einsicht Bahn gebrochen hatte, dass der Stickstoff der eingeführten stickstoffhaltigen Nährstoffe zum weitaus überwiegenden Theile in Form von Harnstoff zur Ausscheidung kommt, musste die naheliegende Vorstellung Boden gewinnen, dass in diesen Nährstoffen, also besonders in den Eiweisskörpern der Harnstoff oder eine ihm sehr nahestehende chemische Verbindung vorgebildet enthalten sei. Die künstliche Zerlegung der Eiweissstoffe und des Leimes durch Säuren, Alkalien und Oxydationsmittel, wie sie zuerst von Liebig's Schülern, Bopp, Hinterberger, Guckelberger, später von Anderen ausgeführt wurde, bestätigte diese Vermuthung nicht, denn die gefundenen Spaltungsproducte vor Allem Leucin, Tyrosin, Glykokoll, denen sich später Asparagin- und Glutaminsäure anreihen, lassen in ihrem chemischen Baue keine nähere Beziehung zum Harnstoffe erkennen. Erst die Mittheilung A. Béchamp's¹⁾, wonach durch Oxydation mit übermangansaurem Kalium die Gewinnung von Harnstoff aus Eiweiss gelungen sein sollte, schien diese Lücke auszufüllen und wurde von den Physiologen als eine willkommene

1) Liebig's Annalen. Bd. C. S. 247.

Erklärung des im Leben statthabenden Vorganges begrüsst. Indess währte es nicht lange, dass auf Grund von Nachuntersuchungen erst Staedeler¹⁾, bald darauf Subbotin²⁾ Béchamp's so bestimm, lautende, aber ungenügend belegte Behauptung als irrig erklärte. Auch als Béchamp 14 Jahre später³⁾ seine Angaben wiederholtet mit neuen, aber wiederum unzulänglichen Daten vertheidigte und durch E. Ritter⁴⁾, allerdings in wenig überzeugender Weise, Unterstützung fand, führten Nachprüfungen (Loew⁵⁾, Tappeiner⁶⁾) zu ganz negativen Ergebnissen. Von da ab galt die Béchamp'sche Angabe für endgültig widerlegt.

Nur für einen bestimmten kleinen Theil des Eiweissstickstoffes ist seitdem die Möglichkeit einer unmittelbaren Betheiligung an der Harnstoffbildung nachgewiesen worden. Drechsel⁷⁾ gelang es, aus Eiweissstoffen Lysatin, und aus diesem durch Hydrolyse Harnstoff zu gewinnen. Seit Hedin⁸⁾ aus der Hornsubstanz eine mit Arginin identische oder ihm doch äusserst ähnliche Base dargestellt hat, kann auch dieses als Muttersubstanz des Harnstoffes⁹⁾ in Frage kommen. Immerhin handelt es sich da nur um einen kleinen Bruchtheil des im Eiweiss enthaltenen Stickstoffes. Auf Grund der von Schützenberger bei Zersetzung der Proteinstoffe mit Baryt erhaltenen Kohlensäurequantität berechnete Drechsel die Menge des auf diese Art aus Eiweiss abzusplattend Harnstoffes bestenfalls auf 10 Proc. des Gesamtstickstoffes.

Das regelmässige Auftreten der Amidosäuren bei der Spaltung des Eiweisses, wie auch deren gelegentliches Auftauchen im Harne bei Störungen des Stoffwechsels, veranlassten dann Schultzen und Nencki¹⁰⁾, den Organismus auf seine Fähigkeit zu prüfen, Glykokoll, Leucin und Tyrosin in Harnstoff überzuführen. Glykokoll und Leucin wurden nahezu gänzlich in Harnstoff umgewandelt, und dasselbe

1) Journal f. prakt. Chemie. Bd. LXXII. S. 251.

2) Chemisches Centralbl. 1865. S. 593.

3) Compt. rend. Vol. LXX. p. 866 u. LXXIII. p. 1323.

4) Compt. rend. Vol. LXXIII. p. 1219.

5) Journal. f. prakt. Chemie. N. F. Bd. II. S. 269.

6) Journal f. prakt. Chemie. N. F. Bd. IV. S. 408, auch Verhandlungen der Kgl. sächs. Gesellsch. d. Wissensch. zu Leipzig. Math. naturw. Kl. 1871. S. 171.

7) Ber. d. Kgl. sächs. Gesellsch. d. Wissensch. zu Leipzig. Math. physikal. Klasse. Sitzung am 1. August 1890.

8) Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XX. S. 186.

9) Vgl. E. Schulze und A. Likiernik, Ber. d. Deutschen chem. Gesellsch. Bd. XXIV. S. 270.

10) Ber. d. Deutschen chem. Gesellsch. Bd. II. S. 566 und Zeitschr. f. Biologie. Bd. VIII. S. 124.

konnte bald darauf v. Knieriem¹⁾ für Asparaginsäure zeigen. Da diese Amidosäuren nur ein Stickstoffatom enthalten, so zwang diese Erfahrung zu der Annahme, dass bei der Bildung des 2 Stickstoffatome enthaltenden Harnstoffes die Aufnahme eines Ammoniakrestes erfolgt, somit ein synthetischer Vorgang, bezüglich dessen Schultzen und Nencki vermuthungsweise auf das vorhergehende Auftreten von Zwischenstufen, als: Cyansäure, Carbaminsäure oder Cyanamid hindeuten.

Zur Aufklärung dieses Verhaltens versuchte es Drechsel²⁾, den im Thierkörper sich abspielenden Vorgang durch Oxydation von Glykokoll, Leucin und Tyrosin mit Hülfe von übermangansaurem Ammon nachzuahmen. Als Endproducte fanden sich Oxaminsäure, Carbaminsäure, Oxalsäure und Kohlensäure, aber kein Harnstoff.

Die Befunde von Schultzen und Nencki gaben überdies zu Untersuchungen in einer neuen Richtung Anstoss. Schultzen³⁾ theilte Beobachtungen mit, wonach beim Hunde nach Fütterung von Sarkosin statt des Harnstoffes die dem Sarkosin entsprechende Uramidosäure zur Ausscheidung kommen sollte.

Fand auch diese Angabe bei sorgfältiger wiederholter Nachprüfung keine volle Bestätigung, so behielt doch die zu Grunde liegende Vorstellung Recht, denn Salkowski⁴⁾ und Andere vermochten die Entstehung von Uramidosäuren im Thierkörper zwar nicht für Sarkosin, wohl aber für andere Amidosäuren sicherzustellen. Der dabei stattfindende Vorgang setzt die Anlagerung einer CONH₂-Gruppe an die NH₂-Gruppe der Amidosäuren voraus. Wie Schultzen selbst hervorhob, müsste eine Anlagerung der -CONH₂-Gruppe an ein aus Ammoniak entstandenes -NH₂ unmittelbar Harnstoff ergeben, eine Vorstellung, welche die Harnstoffbildung im Thierkörper mit der Wöhler'schen Synthese aus Ammoniumcyanat (CON.NH₄) in nächste Beziehung bringt.

In Betreff der Uramidosäuren vermochte die chemische Synthese, den physiologischen Vorgang anscheinend mit sehr ähnlichen oder gar gleichen Mitteln nachzuahmen. Cyansäure lagert sich, wie Salkowski⁵⁾, Hoppe-Seyler, Baumann⁶⁾ und Andere zeigten,

1) Zeitschr. f. Biologie. Bd. X. S. 263.

2) Berichte d. Kgl. sächs. Gesellsch. d. Wissensch. Mathem.-naturw. Klasse 1875. S. 172.

3) Berichte d. Deutschen chem. Gesellsch. Bd. V. S. 578.

4) Berichte d. Deutschen chem. Gesellsch. Bd. VI. S. 744 und Zeitschrift für physiolog. Chemie. Bd. VII. S. 93.

5) Berichte d. Deutschen chem. Gesellsch. Bd. VI. S. 1191.

6) Ebenda. Bd. VII. S. 34.

mit Leichtigkeit schon bei Körpertemperatur an Amidosäuren unter Bildung von Uramidosäuren an, und Hoppe-Seyler machte diese Thatsache zum Ausgangspunkte seiner „Cyansäuretheorie“, wonach die muthmaasslich im intermediären Stoffwechsel auftretende Cyansäure den Bildungsstoff für Harnstoff und Uramidosäuren darstellen sollte.

Der grosse Fortschritt, der in dieser Erkenntniss lag, wurde, ehe er einen nachhaltigen Einfluss auf die einschlägige Forschung ausüben konnte, von einem weiteren noch grösseren überholt, dem Nachweise, dass Ammonsalze unter bestimmten Bedingungen im Thierkörper glatt in Harnstoff übergehen. Dieses zuerst von v. Knie-riem ¹⁾ angegebene, von E. Salkowski ²⁾ und J. Munk ³⁾ bestätigte Verhalten fand dann durch Hallervorden ⁴⁾ seine endgültige Feststellung. Schmiedeberg ⁵⁾, dem dieser Theil unserer Kenntnisse zum grössten Theile die jetzt herrschende Fassung verdankt, wies darauf hin, dass fortan auch für den aus Eiweiss und Amidosäuren entstehenden Harnstoff das bei der Oxydation derselben auftretende Ammoniak die Zwischenstufe sein dürfte, und nahm keinen Anstand, auch für den Kohlenstoff des Harnstoffes eine gleiche Unabhängigkeit von seiner Herkunft in Anspruch zu nehmen. Seiner Auffassung nach zerfallen die stickstoffhaltigen Verbindungen, in denen sich die NH₂-CH₂-Gruppe findet, im Organismus unter Bildung von Kohlensäure und Ammoniak, aus denen dann durch Synthese alsbald Harnstoff hervorgeht.

Diese Auffassung konnte sich von vornherein auf eine bereits gelungene chemische Synthese stützen, denn Basarow ⁶⁾ hatte bereits durch Erhitzen von carbaminsaurem und gewöhnlichem kohlensauren Ammon, allerdings erst bei 130—140°, Harnstoff dargestellt.

Der nähere Vorgang bei der im Thierkörper anzunehmenden Anhydrirung konnte in zweierlei Art gedacht werden. Entweder verliert normales Ammoncarbonat mit einem Schlage 2 Wassermoleküle $[\text{CO}_3(\text{NH}_4)_2 - 2\text{H}_2\text{O} = \text{CO}(\text{NH}_2)_2]$, oder es erfolgt die Anhydrirung in zwei getrennten Schritten, indem das Carbonat durch Verlust eines H₂O zuerst zu Carbamat (CO₂NH₂NH₄), und dieses erst durch neuerliche H₂O-Abspaltung in Harnstoff übergeht.

1) Zeitschr. f. Biologie. Bd. X. S. 263.

2) Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. I. S. 1.

3) Ebenda. Bd. II. S. 29.

4) Archiv f. exp. Path. u. Pharm. Bd. X. S. 124.

5) Ebenda. Bd. VIII. S. 1.

6) Journal f. prakt. Chemie. N. F. Bd. I. S. 283.

Die letztere Form der Anhydrirung wurde von Drechsel¹⁾ besonders hervorgehoben. Derselbe hatte, wie erwähnt, bei Oxydation von Glykokoll und Leucin mit übermangansaurem Ammon Carbaminsäure gefunden, machte dann deren Anwesenheit im Blute wahrscheinlich und knüpfte daran die Vermuthung, dass aus 2 Molekülen carbaminsauren Natrons im Thierkörper mit Hülfe eines Fermentes Harnstoff und kohlen-saures Natron hervorgehen, änderte aber später, als die Function des Ammoniaks als Harnstoffbildner nachgewiesen war, seine Meinung dahin, dass das im Organismus allenthalben durch Zusammentreffen von Ammoniak und Kohlensäure im Entstehungszustande sich bildende Ammoncarbamat die eigentliche Muttersubstanz des Harnstoffes darstellt. Verständlicher wird der physiologische Vorgang der Anhydrirung durch diese Vorstellung kaum. Der erste Schritt derselben, die Bildung von carbaminsaurem Ammon aus Kohlensäure und Ammoniak vollzieht sich in anorganischem, wie in organisirtem Substrate gleich leicht, der zweite, physiologisch allein bedeutsame Schritt vom carbaminsauren Ammon zum Harnstoffe ist somit unter den im Thierkörper gegebenen Bedingungen, ob man vom Carbonat oder dem Carbamat ausgeht, gleich schwer erklärlich.

Ueberblickt man die ganze Entwicklung der Lehre von der Harnstoffbildung, so findet man, dass mit fortschreitender experimenteller Erkenntniss der chemischen Mitwirkung physiologischer Kräfte ein immer grösserer Spielraum zugewiesen wurde. War man ursprünglich geneigt, infolge der vitalen Bildung des Harnstoffes aus Eiweiss allgemein die Praeexistenz einer harnstoffbildenden Atomgruppe im Eiweiss anzunehmen, so räumt Schmiedeberg's Anhydridtheorie dem Organismus gewissermaassen ein unbedingtes Verfügungsrecht über die darin frei werdenden Kohlensäure- und Ammoniakmoleküle ein und erklärt so in einfacher Weise, warum die relative Menge des als Harnstoff ausgeschiedenen Stickstoffes (beim Menschen etwa 86 Proc.) trotz ausserordentlich grosser Verschiedenheit der Nahrung eine auffallende Beständigkeit aufweist. Weiter geht aus diesem Entwicklungsgange hervor, dass die naheliegende und ursprünglich auch gehegte Vorstellung von der Betheiligung der Oxydation an der Harnstoffbildung immer mehr in den Hintergrund trat und schliesslich auf die Annahme beschränkt wurde, dass die Oxydation die zur Harnstoffbildung benöthigte Kohlensäure beistellt.

1) Berichte d. Kgl. sächs. Gesellsch. d. Wissensch. 1875. S. 172, dann Journal f. prakt. Chemie. N. F. Bd. XXII. S. 476.

II. Oxydation von Fettkörpern in ammoniakalischer Lösung und Verfahren zum Nachweise des dabei entstehenden Harnstoffes.

Die Erkenntniss, dass in den Organismus eingeführtes kohlen-saures und pflanzensaures Ammon glatt in Harnstoff übergeht, führte nothwendig zu der Vorstellung, dass auch im Laufe der physiologischen Zersetzungs Vorgänge andauernd Ammoniak aus stickstoffhaltigen Nährstoffen und Gewebebildnern abgespalten, aber sofort in dem Maasse, als er entsteht, durch Umwandlung in Harnstoff unschädlich gemacht wird. Die weitere Folgerung, dass die im Körper stattfindenden Oxydationsvorgänge somit in einer Lösung statthaben, welche die Bethheiligung des Ammoniaks an den intermediären Oxydationsvorgängen möglich macht, veranlasste mich, eine Anzahl als Harnstoffbildner bekannter, später aber auch ganz anderer Stoffe auf ihre in ammonhaltiger Lösung zu erhaltenden Oxydationsproducte zu untersuchen und dabei besonders auf das Auftreten von Harnstoff zu achten. Der Vermuthung, dass in solcher Weise die Harnstoffsynthese zu erreichen wäre, stand allerdings die Angabe Drechsel's entgegen, dass bei der Oxydation von Amidosäuren mit übermangansaurem Ammon kein Harnstoff gebildet wird. Doch war zu bedenken, dass zur Zeit, da Drechsel jene Angabe machte, die Schwierigkeiten des Nachweises kleiner Harnstoffmengen in grösseren Flüssigkeitsvolumen und die Wege, sie zu umgehen, nicht so genau bekannt waren, wie dies jetzt, namentlich dank den einschlägigen Bemühungen v. Schröder's¹⁾, der Fall ist. Bei diesen Oxydationsversuchen wurde auf Einhaltung einer 40° nicht übersteigenden Temperatur und Abwesenheit von freiem fixen Alkali das Hauptgewicht gelegt. Eine weitere im Beginne eingehaltene Regel, durch reichlichen Salzzusatz der Hydratation entgegenzuarbeiten, erwies sich später als entbehrlich.

Der Gang der Oxydationsversuche war im Allgemeinen der folgende. Die zu oxydirende Substanz wurde in gewogener Menge (meist 5, seltener 10 g) in Wasser, wo es nöthig war unter Beihülfe von Ammoniak, gelöst, mit einer gesättigten Lösung von schwefelsaurem Ammon, dann mit Kaliumpermanganat, zum Schlusse mit freiem Ammoniak versetzt. Die Menge des Permanganates war auf Grund der Formel so gewählt, dass sie nahezu ausreichte, die betreffenden Stoffe gänzlich in Kohlensäure, Wasser und Harnstoff überzuführen. Als Grundlage der Berechnung diente die Annahme, dass Uebermangansäure bei Oxydation in alkalischer Lösung in Mangansuperoxyhydrat übergeht. Die zugesetzte Menge Ammonsulfat war wiederum so bemessen, dass sie reichlich hinreichte, um das fixe Alkali des Permanganates als Sulfat zu binden.

1) Archiv f. exp. Path. u. Pharm. Bd. XV. S. 364.

Die beim Zusammenbringen der Flüssigkeit mit der Chamäleonlösung eintretende Reaction war je nach der Natur der gewählten Substanz von sehr ungleicher Lebhaftigkeit. Trat rasche Erwärmung ein, so wurde die Reaction durch Verdünnen und Kühlen mit kaltem Wasser gemässigt. Die Zeit, die zur völligen Entfärbung der Chamäleonflüssigkeit benöthigt war, schwankte von einer Viertelstunde bis zu mehreren Tagen und musste in letzterem Falle öfter durch anhaltendes Erwärmen auf 40° abgekürzt werden. Dann wurde von dem abgeschiedenen Braunstein abfiltrirt und die stark ammoniakalisch riechende Flüssigkeit in Glasschalen mit ebenem Boden bei 40—50° bis nahe zur Trockne eingedampft. Der erhaltene Krystallbrei wurde noch warm in 96 proc. Alkohol gut vertheilt und damit 10—12 Stunden stehen gelassen. Die dann auskrystallisirten Sulfate liessen sich durch Coliren gut von der alkoholischen Lösung trennen, der Rest der ihnen anhaftenden Flüssigkeit wurde nahezu gänzlich durch Abpressen gewonnen. Nach nochmaligem Eindunsten verblieb ein manchmal syrupöser, öfter krystallinischer Rückstand, der neuerlich mit 96 proc. Alkohol aufgenommen wurde. Die Lösung wurde mit dem halben Volum Aether versetzt und stehen gelassen, wobei der Rest der Sulfate und der grösste Theil der etwa durch Oxydation entstandenen Nitrate auskrystallisirte. Die alkalisch-ätherische Lösung liess beim Eindunsten auf ein möglichst kleines Volum einen Rückstand, der durch Zusammenbringen eines Tröpfchens mit einer gleichen Menge concentrirter Salpetersäure auf einem Objectträger auf die Gegenwart von Harnstoff geprüft wurde. Trat bei dieser vorläufigen Probe nicht sofort Ausscheidung des für salpetersauren Harnstoff typischen, schuppenförmigen, unter dem Mikroskop aus Plättchen von charakteristischer Form bestehenden Niederschlages ein, so wurde der Rückstand mit wenig absolutem Alkohol aufgenommen, die Lösung mit dem halben Volum Aether versetzt, nach längerem Stehen von dem etwa neuerlich ausgeschiedenen Niederschlage abfiltrirt, die alkohol-ätherische Lösung neuerlich eingedunstet und auf Harnstoff geprüft. War auch jetzt kein Harnstoff nachweisbar, so wurde das ganze Vorgehen nochmals wiederholt, und falls auch jetzt die Harnstoffreaction in der zum Syrup eingeengten Flüssigkeit ausblieb, der Ausfall des Oxydationsversuches als negativ verzeichnet.

Für den Fall, dass die Probe mit Salpetersäure die Anwesenheit von Harnstoff wahrscheinlich gemacht hatte, wurde zunächst die Beseitigung der Fehlerquellen dieser sehr charakteristischen, aber auch trügerischen Reaction angestrebt.

In dieser Richtung sei bemerkt, dass schon die vorgängige Behandlung mit Aetheralkohol der Gefahr, salpetersaure Salze (z. B. salpetersaures Kali) für salpetersauren Harnstoff anzusehen, vorbeugte. Von Salzen ging unter den von mir eingehaltenen Verhältnissen nur etwas salpetersaures Ammoniak in den Aetheralkohol über, dasselbe giebt aber selbst in concentrirtester Lösung mit Salpetersäure keine Krystalle, ja Krystalle von salpetersaurem Ammon lösen sich direct in darauf gebrachter concentrirter Salpetersäure auf. Beachtenswerth ist hingegen als Fehlerquelle das Verhalten etwa vorhandener Salze der Benzoësäure oder krystallisirbarer hoher Fettsäuren, sowie des Hexamethylentetramins. Sind diese Substanzen durch Oxydation entstanden, so begleiten sie den Harnstoff

bei dem angeführten Darstellungsverfahren, und bei Zusatz von Salpetersäure scheidet sich dann ein Niederschlag der freien Säuren oder des salpetersauren Hexamethylentetramins aus, der beim ersten Anblicke für salpetersauren Harnstoff gelten kann, wenn auch die mikroskopische Untersuchung sofort den Irrthum aufklärt. Natürlich wird aber dadurch die Erkennung daneben wirklich vorhandenen Harnstoffes sehr erschwert oder unmöglich gemacht. In solchen Fällen, wo Benzoësäure oder Fettsäuren gegenwärtig waren, wurde die wässrige Lösung mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt, der Rückstand mit Ammoniak alkalisch gemacht, bei niederer Temperatur zur Trockne gebracht, mit Alkohol aufgenommen und im Uebrigen neuerdings wie früher behufs Nachweises des Harnstoffes behandelt.

Hexamethylentetramin, dessen störendes Auftreten mir nur bei Verarbeiten von Formaldehyd aufstieß, lässt sich der ammoniakalischen Harnstofflösung leicht durch Chloroform entziehen.

Neben der Salpetersäurereaction kamen auch die anderen qualitativen Harnstoffreactionen zur Verwendung. Die meisten stehen ihr jedoch an Zuverlässigkeit weit nach. Nur die Ueberführung in Biuret oder Cyanursäure und der daran sich schliessende Nachweis dieser Körper durch die charakteristischen Kupferreactionen sind an Beweiskraft der Salpetersäureprobe überlegen. Sie erheischen aber eine ziemliche Menge Substanz annähernd reiner Beschaffenheit, so dass es in diesem Falle vorzuziehen ist, den einmal krystallinisch erhaltenen Harnstoff vollends zu reinigen und durch Schmelzpunkt-, sowie Stickstoffbestimmung zu identificiren. Diesen Weg habe ich auch, wenn auch nicht in allen Fällen, wo die vorläufige Untersuchung Harnstoff angezeigt hatte, so doch in einer Anzahl davon, nämlich dort eingeschlagen, wo mir dies für die theoretische Deutung der Harnstoffbildung besonders erforderlich schien.

Hierbei kam mir der Umstand zu Statten, dass sich bei sorgfältigem und namentlich sparsamem Arbeiten selbst wenige Centigramme Harnstoff leicht in untadelhaften Krystallen gewinnen lassen.

Da die Alkoholätherauszüge je nach der Natur der oxydirten Substanz den Harnstoff in verschiedener Weise verunreinigt enthalten, konnte das Verfahren nicht in allen Fällen dasselbe sein. In seinen Hauptzügen ging es darauf aus, die aus dem Alkoholätherauszuge erhaltene concentrirte Harnstofflösung von etwa vorhandenen, durch verdünnte Säure, Aether, oder Chloroform zu beseitigenden Beimengungen in oben angegebener Weise zu befreien, aus der so erhaltenen, eventuell mit Ammoniak neutralisirten und neuerlich durch Einengen, Aufnehmen mit Alkohol und Aether gereinigten Lösung den Harnstoff durch gekühlte Salpetersäure auszufällen, und diesen aus dem Nitrate rein darzustellen. Dabei wurde darauf gesehen, dass die wässrige Lösung, aus der durch Salpetersäure der Harnstoff gefällt werden sollte, möglichst concentrirt und völlig klar war. Der Niederschlag wurde nach mehrstündigem Stehen in der Kälte unter Nachspülen mit der abfließenden Mutterlauge auf ein Glaswollfilter gebracht, darauf nach völligem Ablaufen der Mutterlauge zunächst mit salpetersäurehaltigem Aceton, dann mit Aceton und Aether, schliesslich mit reinem Aether ausgewaschen. Nach Verdunsten des Aethers blieb der salpetersaure Harnstoff als weisse oder nur schwach gelbliche, trockene

Krystallmasse zurück, die nun mit wenig warmem Wasser versetzt, mit kohlensaurem Baryt gut angerührt und damit zur Trockne eingedunstet wurde. Der Rückstand wurde mit warmem absoluten Alkohol ausgezogen, dieser nach dem Erkalten mit dem halben Volum Aether versetzt, nach längerem Stehen abfiltrirt und neuerlich eingeengt. Dabei krystallisirte Harnstoff in den charakteristischen Prismen aus. Zur weiteren Reinigung wurde er in sehr wenig Wasser gelöst und in einem kleinen Bechergläschen der spontanen Verdunstung überlassen, wobei er sich in compacten, langen, farblosen Prismen ausschied. Von den anhaftenden Resten einer gelblich gefärbten syrupösen Mutterlauge wurde er durch wiederholtes Uebergiessen mit einigen Tropfen bis zu 1 ccm warmen Acetons befreit. Dieses nahm die Mutterlauge auf, ohne die gröberen Krystalle merklich anzugreifen, und wurde abgossen. Der rückständige Harnstoff wurde dann durch Auflösen in wenig Wasser und Wiederholung des Vorganges gänzlich rein gewonnen. Für die Gewinnung kleiner Harnstoffmengen in reinem Zustande erwies sich auch hier die Vermeidung höherer Temperaturen beim Eindampfen, sowie der längeren Einwirkung von saurer oder alkalischer Reaction als maassgebend.

Betreffs der Schmelzpunktbestimmung sei bemerkt, dass ich den Schmelzpunkt reinen, aus käuflichem Präparat dargestellten Harnstoffes zu 132 bis 133° (uncorr.) gefunden habe. Ljubavin¹⁾ giebt ihn für synthetischen Harnstoff zu 132°, Nebelthau²⁾ für aus Froschharn gewonnenen zu 132—134° an.

Die Stickstoffbestimmung geschah nach Kjeldahl, mit der selbstverständlichen Abweichung, dass bei der Zersetzung mit Schwefelsäuremischung der Zusatz eines die Oxydation vermittelnden Stoffes als überflüssig unterlassen wurde.

III. Uebersicht der Versuche.

Bei der Auswahl der Stoffe, welche auf ihre Fähigkeit, bei der Oxydation Harnstoff zu bilden, untersucht werden sollten, ging ich aus naheliegenden Gründen zunächst von solchen aus, bei denen ein positives Ergebniss allenfalls vermuthet werden konnte. Als sich ein solches überraschend oft einstellte, zog ich zunächst ferner liegende stickstoffhaltige und dann auch stickstofffreie Substanzen in den Bereich der Untersuchung. Da eine Durchprüfung aller etwa in den Thierkörper mit der Nahrung eingeführter oder gar nur gelegentlich versuchshalber beigebrachter Stoffe nach dieser Richtung nicht in meiner Absicht lag, auch eine Häufung namentlich negativer Resultate keine weiteren Aufschlüsse versprach, steckte ich der Arbeit nach Durchprüfung von rund 40 verschiedenen Stoffen ein Ziel, zumal schon die ermittelten Thatsachen ein Urtheil darüber ermöglichen, welche chemische Constitution die Bildung von Harnstoff durch Oxydation erwarten lässt, und welche nicht.

1) Berichte d. Deutschen chem. Gesellschaft. Bd. III. S. 305.

2) Zeitschr. f. Biologie. Bd. XXV. S. 130.

Ich theile diese Versuche im Nachstehenden tabellarisch mit. Dort, wo der Nachweis des Harnstoffes bloss durch qualitative Reactionen erfolgte, ist weiter keine Bemerkung hinzugefügt. Dort, wo Schmelzpunkt- und Stickstoffgehalt bestimmt wurde, sind die betreffenden Versuchsdaten angegeben. Die untersuchten stickstoffhaltigen Substanzen sind zuerst, dann die stickstofffreien, und zwar nach Kohlenstoff- und Sauerstoffgehalt geordnet, angeführt.

Cyanwasserstoff. Verwendet wurde Cyankalium. Harnstoff reichlich.

Rhodanwasserstoff. Verwendet Rhodankalium. Viel Harnstoff.

Formamid. Wenig Harnstoff.

Aethylamin. Kein Harnstoff.

Acetonitril. Kein Harnstoff.

Acetamid. Kein Harnstoff.

Glykokoll. Viel Harnstoff. Schmelzp. 132°, N gefunden 46,84 Proc.

Oxaminsäure. Harnstoff. Schmelzp. 131,5°, N gefunden 46,8 Proc. (berechnet 46,67).

Oxamid. Kein Harnstoff.

Asparaginsäure. Viel Harnstoff.

Asparagin. Viel Harnstoff.

Succinamid. Kein Harnstoff.

Leucin. Harnstoff. Schmelzp. 133°.

Glutin (käufliche reinste Gelatine). Harnstoff.

Eieralbumin, reines. Viel Harnstoff. Schmelzp. 132°.

Methylalkohol. Viel Harnstoff. Schmelzp. 132°.

Formaldehyd. Kein Harnstoff (viel Hexamethylentetramin).

Ameisensäure, als Natronsalz. Kein Harnstoff.

Kohlensäure. Verwendet wurde käufliches reines kohlen-saures, also carbamathaltiges Ammon. Kein Harnstoff.

Da auch in allen anderen negativ verlaufenen Oxydationsversuchen massenhaft Kohlensäure und, durch Einwirkung dieses auf Ammoniak, Carbaminsäure entstanden sein musste, so sind auch diese Versuche ein Beleg dafür, dass Ammoncarbonat und Carbamat unter den gegebenen Verhältnissen keinen Harnstoff bilden.

Aethylalkohol. Kein Harnstoff.

Acetaldehyd. Kein Harnstoff.

Essigsäure. Kein Harnstoff.

Aethylenglykol. Wenig Harnstoff. Schmelzp. 131,5°.

Glykolsäure. Harnstoff.

Glyoxylsäure. Verwendet das Kalksalz. Kein Harnstoff,
Glyoxal. Kein Harnstoff.

Oxalsäure, als Ammonsalz. Kein Harnstoff.

Aceton. Wenig Harnstoff.

Propionsäure. Kein Harnstoff.

Milchsäure. Viel Harnstoff. Schmelzp. 132°.

Malonsäure. Kein Harnstoff.

Glycerin. Kein Harnstoff.

Buttersäure. Kein Harnstoff.

Bernsteinsäure. Kein Harnstoff.

Aepfelsäure. Harnstoff.

Weinsäure. Viel Harnstoff. Schmelzp. 132°, N gefunden
= 46,4 Proc.

Traubenzucker. Kein Harnstoff.

Pyrogallol. Harnstoff. Schmelzp. 133°.

In einigen Versuchen habe ich nebenbei die Menge des reinen und trockenen Harnstoffnitrats bestimmt, was zur annähernden Beurtheilung der entstehenden Harnstoffquantität von Belang ist.

So lieferten 10 g Glykokoll 3 g Harnstoff als Nitrat, 10 g Oxaminsäure bloss 0,7 g, 20 g Weinsäure 0,7 g, 5 g Leucin 0,2 g, 39 g reines Eialbumin 2,0 g.

Da die angewandte Darstellungsmethode keine quantitative Ausbeute verbürgt, auch das Oxydationsverfahren nicht nach der Richtung einer maximalen Harnstoffgewinnung ausgearbeitet war, bleiben die angeführten Zahlen um eine vorläufig nicht zu schätzende Grösse gegen die unter den günstigsten Bedingungen wirklich gebildeten Harnstoffmengen zurück.

Der Nachweis von Harnstoff unter den Oxydationsproducten des Eiweisses stellt sich in meinen Versuchen als naturgemässe Folge der Thatsache dar, dass die Amidosäuren, welche die Proteinstoffe aufbauen helfen, z. B. Leucin und Asparaginsäure, selbst Harnstoffbildner sind. Ob Béchamp bei seinen vielbesprochenen Versuchen in der That jemals Harnstoff unter der Hand gehabt hat, kann auf Grund meiner Versuche, die nach einem anderen Verfahren ausgeführt wurden, weder bejaht, noch verneint werden. In Betreff der von ihm benutzten Nachweismethode kann ich nach meinen Erfahrungen nur den von Staedeler und Anderen geäusserten Bedenken beipflichten. Einen ausreichenden Beweis hat er für seine Behauptung jedenfalls nicht beigebracht.

IV. Abhängigkeit der Harnstoffbildung von der chemischen Natur der oxydirten Substanz.

Aus den angeführten Versuchsergebnissen lassen sich folgende Sätze betreffend der oxydativen Bildung des Harnstoffes ableiten:

1. Bei Oxydation von organischen Substanzen in wässriger ammoniakalischer Lösung bei niederer Temperatur ist Harnstoff ein häufig und oft in erheblicher Menge auftretendes Endproduct.

2. Unter diesen Verhältnissen führt nicht bloss die Oxydation von stickstoffhaltigen, sondern auch von stickstofffreien Substanzen zur Harnstoffbildung. Im letzteren Fall findet durch doppelte Amidirung ein Uebergang von der Reihe stickstofffreier zu stickstoffhaltigen Substanzen statt.

3. Die Fähigkeit der Harnstoffbildung ist zumeist auf bestimmte chemische Gruppen beschränkt. So erwiesen sich als der Harnstoffsynthese unfähig von stickstoffhaltigen Körpern: Aethylamin, Acetonitril, Acetamid, Oxamid, Succinamid, von stickstofffreien Substanzen: Formaldehyd, Ameisensäure, Kohlensäure, Aethylalkohol, Acetaldehyd, Essigsäure, Glyoxylsäure, Glyoxal, Oxalsäure, Propionsäure, Malonsäure, Glycerin, Buttersäure, Bernsteinsäure, Traubenzucker.

Hingegen geben Harnstoff: a) bestimmte Methanderivate; Cyanwasserstoff, Rhodanwasserstoff, Formamid und Methylalkohol:

b) sämtliche Amidosäuren einschliesslich der Proteinstoffe: Glykokoll, Leucin, Asparaginsäure, Asparagin, Leim, Eialbumin;

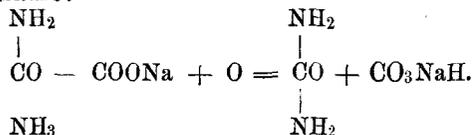
c) sämtliche Oxysäuren der Fettreihe: Glykolsäure, Milchsäure, Apfelsäure, Weinsäure;

d) zwei mehratomige Alkohole: Glykol, Pyrogallol;

e) Aceton;

f) Oxaminsäure.

4. Die Bildung des Harnstoffes vollzieht sich unter Verhältnissen, die eine Anhydrirung ausschliessen. Die dabei stattfindende Synthese kann somit nur als eine durch den Oxydationsvorgang selbst vermittelte — als eine oxydative Synthese — angesehen werden. Der nähere Vorgang dabei lässt sich bei den stickstoffhaltigen Substanzen am einfachsten dahin auffassen, dass einerseits ein durch Oxydation entstandener, die Amidgruppe enthaltender Rest NH_2CO -, andererseits ein durch Oxydation des Ammoniaks entstandener NH_2 -Rest im Entstehungszustande zusammen treten. Zum Beispiele im Falle der Oxaminsäure:



Diese Vorstellung findet eine gewichtige Stütze in der That-
sache, dass mit der Oxydation des Kohlenstoffes auch eine solche
des Ammoniaks einhergeht, wie dies in der reichlichen Bildung
von Salpetersäure, namentlich bei längerer Dauer der Reaction zu
Tage tritt.

Hier und in ähnlichen Fällen liefert das freie Ammoniak des
Reaktionsgemisches die eine NH_2 -Componente des Harnstoffes, die
Oxaminsäure (ebenso das Glykokoll u. s. w.) die zweite NH_2 -Componente
und die CO-Gruppe.

Bei Abwesenheit freien Ammoniaks vermag übrigens die Oxamin-
säure beide Stickstoffcomponenten des Harnstoffes zu liefern, indem sie
zum Theile in oxalsaures Ammoniak übergeht, nur dass dann die einmal
entstandene Oxalsäure für die Harnstoffbildung ausser Betracht bleibt.
Es giebt sonach Stoffe, welche beide Componenten des Harnstoffes, die
 NH_2 - und CO-Gruppe, wenn auch nicht nothwendig aus einem Mole-
küle, zu liefern vermögen, daneben andere, welche nur die Stickstoff-
componente abgeben, so vor Allem Ammoniak, aber auch alle leicht
unter Ammoniakbildung zerfallenden, für sich aber der Harnstoff-
bildung unfähigen Substanzen, z. B. Acetamid, endlich solche, welche
nur die Kohlenstoffcomponente (CO) beisteuern können — wie dies
für sämtliche stickstofffreie Substanzen gilt, die bei Gegenwart von
Ammoniak Harnstoff geben.

In Betreff der Bildung der Kohlenstoffcomponente lassen die mit-
getheilten Ergebnisse eine merkwürdige Abhängigkeit von der Con-
stitution der Muttersubstanz erkennen. Methyl- und Carboxylgruppen,
die an Kohlenstoff gebunden sind, also: $\text{CH}_3 - \text{C}\equiv$ und $\equiv\text{C} - \text{COOH}$
vermögen nicht zur Harnstoffbildung beizutragen, während ihr die bei
Amido- und Oxysäuren gewöhnliche Anordnung — $\text{CHNH}_2 - \text{COOH}$ und
— $\text{CHOH} - \text{COOH}$ äusserst günstig ist. Die Säureamidgruppe — CONH_2 ,
die Nitrilgruppe — CN , die Alkoholgruppe — CH_2OH sind nur in den
einfachsten Kohlenstoffverbindungen befähigt, die zur Harnstoffbildung
benöthigte CO-Gruppe abzugeben, so beim Formamid und der
Oxaminsäure, der Blausäure, dem Methylalkohol und dem Aethyl-
englykol.¹⁾

Entwickelt man nach Analogie der bekannten chemischen Oxydations-
vorgänge nähere Vorstellungen über die Natur der bei oxydativem Abbau
der Reihe nach entstehenden Stoffe, so gelangt man bei stickstoffhaltigen
Substanzen immer wieder auf dieselben Endglieder, deren Bildung jener
des Harnstoffes vorangehen muss. Cyansäure (CONH), Formamid (HCONH_2)

1) Das Verhalten des Pyrogallols stellt hier eine Ausnahme dar, die sich aus
dem raschen Zerfalle desselben erklären dürfte.

und Oxaminsäure ($\text{CONH}_2 \cdot \text{COOH}$). Für die Befähigung der — CONH_2 -Gruppe zur Harnstoffbildung scheint der Umstand maassgebend zu sein, dass ihre freie Valenz nicht bereits durch Sauerstoff (wie in der Carbinsäure), sondern durch einen für Sauerstoff angreifbaren, und zwar leicht angreifbaren Rest gesättigt ist. Ist letzteres nicht der Fall, so liegt die Wahrscheinlichkeit vor, dass die einer Hydrolyse sehr zugängliche Gruppe — CONH_2 früher zerfällt, ehe es zur Anlagerung des zweiten NH_2 kommt. So ist z. B. im Acetamid (CH_3CONH_2) die CH_3 -Gruppe nachweislich für Oxydationsmittel schwer angreifbar, es kommt dann eher zur Bildung von essigsäurem Ammon als zur Abspaltung und Oxydation der CH_3 -Gruppe, womit der Harnstoffbildung ein Riegel vorgeschoben ist, da die Essigsäure zu einer solchen nicht befähigt.

Hingegen macht die Anwesenheit einer — NH_2 oder — OH -Gruppe an dem dem Carboxyl benachbarten Kohlenstoffatome, wie im Glykokoll und der Glykolsäure, diese für Oxydationsmittel leicht angreifbar. Es ist dies direct aus der in solchen Fällen (z. B. der Essigsäure gegenüber) sehr rasch verlaufenden Reaction mit Permanganat zu ersehen. Für Glykokoll ist übrigens die Ueberführbarkeit in Oxaminsäure durch R. Engel¹⁾ und Drechsel²⁾ nachgewiesen. Es erfolgt somit in diesem Falle zunächst die Oxydation der — CH_2NH_2 -Gruppe zur — CONH_2 -Gruppe, dann erst die Abspaltung des Carboxyls und der Eintritt des — NH_2 .

V. Vergleich der Harnstoffbildung durch Oxydation mit dem entsprechenden Vorgange im Thierkörper.

Die mitgetheilten Befunde regen zu mannichfachen Ueberlegungen nach physiologischer Seite hin an. Da, wie oben auseinandergesetzt, die Bedingungen, die bei der künstlichen Oxydation eingehalten werden, den im Thierkörper gegebenen vergleichbar sind, so lohnt es sich, zu untersuchen, inwiefern die gewonnenen Erfahrungen mit den im Organismus gefundenen Thatsachen in Uebereinstimmung stehen.

Nach der eingangs gebotenen Uebersicht hat der Thierversuch neben den Proteinstoffen auch die Amidosäuren und die Ammonsalze, letztere, soweit sie nicht an unverbrennliche Säuren gebunden sind, als Vorstufen des Harnstoffes ergeben. Genau die gleichen Stoffe haben sich auch im Oxydationsversuche als Harnstoffbildner ergeben.

Dem gegenüber sind stickstoffhaltige Substanzen bekannt, welche, in den Thierkörper eingeführt, trotz naher Verwandtschaft zum Harnstoffe zum grössten Theile unverändert ausgeschieden werden, so Acetamid³⁾ und Oxamid.⁴⁾ Es ist bemerkenswerth, dass gerade diese Stoffe auch beim chemischen Versuche keinen Harnstoff bildeten.

1) Compt. red. Vol. LXXIX. p. 808.

2) Ber. d. Kgl. sächs. Gesellsch. d. Wissensch. Math.-nat. Kl. 1875. S. 172.

3) Schultzen und Nencki, a. a. O.

4) W. Ebstein und A. Nicolaier, Verh. des VIII. Congresses für innere Medicin 1889. S. 69 ff.

Ferner wäre nach Analogie mit Methylalkohol zu erwarten gewesen, dass Formaldehyd ein Harnstoffbildner ist. In ammoniakalischer Lösung geht aber bekanntermaassen Formaldehyd rasch in das schwer angreifbare Hexamethylentetramin über. Es blieb denn auch die Harnstoffbildung aus, was wiederum daran erinnert, dass Nicolaier¹⁾ den unveränderten Uebergang von innerlich gereichem Hexamethylentetramin in den Harn beobachtet hat.

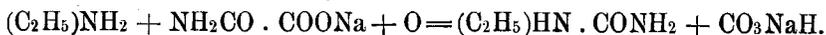
Im Hinblick auf das Verhalten der Säureamide erscheint die Beobachtung, dass die so nahestehende Oxaminsäure auf chemischem Wege Harnstoff giebt, fast als ein Widerspruch. Ueber das Schicksal der Oxaminsäure im Thierkörper ist nichts Näheres bekannt. Von vornherein war bei der grossen Leichtigkeit, mit welcher sie namentlich in alkalischer Lösung in Oxalsäure und Ammoniak zerfällt, zu erwarten, dass sie sich im Thierversuche als giftig erweisen und zu einer reichlichen Ausscheidung von Oxalat Veranlassung geben würde. Indessen ergaben Versuche, die Herr Dr. Leo Schwarz im hiesigen Laboratorium ausführte, dass Oxaminsäure im Thierkörper, soweit sie angegriffen wird, ohne erhebliche vorgängige Oxalatbildung in Harnstoff übergeht, demgemäss selbst in grossen Gaben ungiftig ist.

In allen angeführten Fällen zeigt sich eine Uebereinstimmung zwischen Thierversuch und dem chemischen Experimente, welche lehrt, dass die gewählte chemische Versuchsanordnung den Vorgang der Harnstoffbildung im Thierkörper besser nachzuahmen gestattet, als bisher möglich war, daher auch die dabei gemachten Wahrnehmungen umgekehrt wieder zur Deutung des vitalen Vorganges herangezogen werden dürfen.

Auch das Auftreten der Uramidosäuren lässt sich ohne weiteres mit den entwickelten Vorstellungen vereinen. In diesem Falle lagert sich die verfügbare CONH₂-Gruppe statt an NH₃ an eine Amidosäure an, z. B. bei der Bildung der Uramidoisäthionsäure aus Taurin genau nach derselben Regel, wie sie oben beispielsweise für Ammoniak und Oxaminsäure als wahrscheinlich hingestellt wurde:



Gleich verständlich ist nach dieser Vorstellung die Bildung des Aethylharnstoffes aus Aethylamin²⁾



1) Deutsche med. Wochenschr. Bd. XXI. S. 541.

2) Vgl. Schmiedeberg, Archiv f. exp. Path. u. Pharm. Bd. VIII. S. 1.

Während der Vergleich der experimentellen und vitalen Harnstoffbildung, soweit es sich um stickstoffhaltige Substanzen handelt, der Prüfung am Thiere gut zugänglich ist, stellt sich die Sache viel ungünstiger für stickstofffreie Substanzen. Das Harnstoffbildungsvermögen der Glykolsäure, Aepfelsäure, Weinsäure, des Methylalkohols u. s. w. ist im Experimente gewissermaassen ein facultatives. Nur im Falle ihnen Ammoniak ausreichend zu Gebote steht, bilden sie bei Oxydation Harnstoff, sonst gehen sie einfach in Kohlensäure und Wasser über. Ein gleiches ist von ihrem Verhalten im Thierkörper zu erwarten. Tritt hier bei ihrer Verbrennung Ammoniak an sie heran, so werden sie Harnstoff liefern, sonst aber nicht. Sie werden daher auch nicht die Menge des ausgeschiedenen Harnstoffes vermehren. Bei dieser Sachlage kann man zweifelhaft sein, ob im Thierkörper stickstofffreie Substanzen an der Harnstoffbildung irgend einen Antheil nehmen. Immerhin liegt schon jetzt eine Thatsache vor, die einer solchen Vorstellung günstig ist, die ungleiche Giftigkeit der Ammonsalze. Boehm und Lange¹⁾ bezeichnen Chlorammonium als das giftigste Ammonsalz, ihm folgt das Carbonat. Nach Marfori²⁾ vertragen Hunde Ammoniak bei intravenöser Injection von milch- und weinsaurem Salz in mehr als doppelter Dosis als in Form von Carbonat. Bei Pflanzenfressern ist der Unterschied nicht ganz so gross, aber immerhin sehr auffällig. Geht man mit Marfori von der Voraussetzung aus, dass die Grösse der giftigen Dosis von der Fähigkeit des thierischen Organismus abhängt, das eingeführte Ammoniak in den ungiftigen Harnstoff umzuwandeln, so lässt sich dieser Sachverhalt jetzt dahin deuten, dass Salmiak die Umwandlung in Harnstoff gar nicht oder nur in beschränktem Umfange gestattet, das Carbonat zwar die Stickstoffcomponente des Harnstoffes liefert, aber hinsichtlich der Kohlenstoffcomponente auf die Mitwirkung der im Organismus sich abspielenden Spaltungen angewiesen ist, das Lactat und Tartrat aber dem Organismus neben dem benötigten Ammoniak zugleich ein zur Bildung der Kohlenstoffcomponente besonders geeignetes Material zuführen. Die Giftigkeit der Ammonsalze nimmt danach anscheinend in dem Maasse ab, als sie günstigere Bedingungen für eine rasche Entgiftung durch Harnstoffbildung bieten.

Gestattet der Vergleich der oxydativen Harnstoffbildung mit dem entsprechenden Vorgänge im Thierkörper anschaulichere Vorstellungen über die Art dieses Vorganges zu gewinnen, so giebt er auch eine

1) Archiv f. exp. Path. u. Pharm. Bd. II. S. 369 u. 374.

2) Ebenda. Bd. XXXIII. S. 78.

Vereinfachung für unsere Auffassung der einschlägigen durch v. Schröder festgestellten Leberfunction an die Hand. Die Annahme eines specifischen Vermögens, Harnstoff zu bilden, oder einer ausgesprochenen anhydrirenden Wirkung erscheint, wenn auch nicht widerlegt, doch entbehrlich. Dass in der Leber Zerfall von Gewebsbestandtheilen statt hat, lehrt die Natur der in der Galle auftretenden Substanzen, dass die Leber Fettkörper in besonders intensiver Weise oxydirt, hat Pohl¹⁾ gezeigt, dass endlich der Leber stickstoffhaltige Spaltungsproducte des Eiweisses und Ammoniak selbst durch die Pfortader zugeführt werden, ist theils allgemein angenommen, theils direct bewiesen.²⁾

Die Annahme einer oxydativen Bildung des Harnstoffes aus solchem zugeführten, wie in der Leber selbst durch Spaltung und Oxydation entstehenden Material reicht somit zur ungezwungenen Deutung der bekannten Thatsachen völlig aus.

Die bisher am besten begründeten Vorstellungen von der vitalen Harnstoffbildung, die Anhydrid- und die Cyansäuretheorie, beziehen sich nur auf das letzte Glied der Vorgänge, welche zur Harnstoffbildung führen — die eigentliche Harnstoffsynthese. Ihre Schwächen liegen in entgegengesetzter Richtung. Die Cyansäurehypothese lässt den eigentlichen Entstehungsvorgang, Umlagerung des cyansuren Ammons, sehr verständlich erscheinen, aber der Nachweis des Auftretens von Cyansäure bei der Oxydation im Organismus oder unter dem physiologischen Vorgang nachgeahmten Verhältnissen steht aus; der Anhydridhypothese steht das Bildungsmaterial, Kohlensäure und Ammon, in beliebiger Menge zur Verfügung, hingegen ist der Vorgang der Anhydrirung nur durch Hinweis auf das Vorkommen analoger Synthesen, so der Hippursäurebildung, begründet. Welche von diesen und den sonst bisher entwickelten Anschauungen schliesslich Recht behalten dürfte, wäre müssig zu erörtern. Nur in Betreff der Cyansäuretheorie seien einige Bemerkungen gestattet, weil mir in dieser Richtung einschlägige neue Beobachtungen zur Verfügung stehen.

Die Cyansäuretheorie leidet, wie erwähnt, an dem Mangel, dass bisher Cyansäure nicht im Organismus aufgefunden werden konnte. Die von S. Lang³⁾ beobachtete Abspaltung der CN-Gruppe aus in den Thierkörper eingeführten Nitrilen und deren Ausscheidung als

1) Archiv f. exp. Path. u. Pharm. Bd. XXXI. S. 281.

2) Für Ammoniak erst neuerlich durch Nencki, Pawlow und Zaleski, Ebenda. Bd. XXXVII. S. 26.

3) Ebenda. Bd. XXXIV. S. 247.

Rhodan schien den Weg zur Beseitigung dieses Mangels zu weisen. Wie seit Schlieper¹⁾ und Guckelberger²⁾ bekannt ist, liefern Leim und Eiweisskörper bei der Oxydation mit Chromsäure oder Braunstein und Schwefelsäure Fettsäurenitrile. Da die Möglichkeit, dass eine abgespaltene CN-Gruppe im Organismus durch Oxydation zu CONH wird, mindestens ebenso gross ist, wie die des wirklich nachweisbaren Ueberganges zu CNSH, so war die neuerliche Untersuchung des Organismus, namentlich der harnstoffbildenden Leber auf Cyansäure dringend geboten.

Da meine einschlägigen Versuche ein negatives Ergebniss lieferten, kann über sie in Bausch und Bogen berichtet werden.

Das angewandte Verfahren war Folgendes: Die auf Cyansäure zu untersuchende Leber wurde in basische Bleiacetlösung gebracht, welche Cyansäure als schwer zersetzliche Bleiverbindung fällt, in der Lösung zu einem gleichmässigen Brei zerrührt, nach mehrstündigem Stehen auf Eis in Alkohol von 96 Proc. eingetragen und darin gut vertheilt, dann aufs Filter gebracht und mit Alkohol, behufs Entfernung jeder Spur vorgebildeten Harnstoffes vollends ausgewaschen. Der Rückstand wurde dann durch Abpressen von Alkohol befreit und mit wässriger Ammonsulfatlösung auf dem Wasserbade 1 Stunde lang digerirt. Da bei gleicher Behandlung cyansaures Blei leicht in Harnstoff übergeht, so wurde in dem Auszuge des Rückstandes nach diesem in bekannter Weise gesucht. Bei den einschlägigen Versuchen boten nicht einmal die qualitativen Reactionen einen Hinweis auf die Anwesenheit von Harnstoff, es musste daher die Gegenwart unter diesen Verhältnissen nachweisbarer Cyansäuremengen verneint werden.³⁾

Das Ergebniss war ein gleiches, ob die Leber eines im Verdauungsstadium befindlichen Hundes sofort nach Entnahme aus dem Körper oder nach 2stündigem Verweilen bei 40° in Arbeit genommen wurde. Letzterer Versuch zeigte überdies, dass auch bei den in der überlebenden Leber stattfindenden Vorgängen, wo eine Wegführung etwa neu gebildeter Stoffe wie auch der Zutritt von Ammoniak von den Organen her ausgeschlossen ist, eine Anhäufung von Cyansäure in merklichem Umfange nicht erfolgt.

Schlagender noch dürfte gegen die Betheiligung der Cyansäure an der Harnstoffbildung die Thatsache sprechen, dass es nicht gelingt, bei mit Ammoniak vergifteten Thieren durch Zufuhr von cyansaurem Natron die Vergiftungssymptome zum Schwinden zu bringen. Erfolgte die Entgiftung des bei der physiologischen Zersetzung

1) Liebig's Annalen. Bd. LIX. S. 1.

2) Ebenda. Bd. LXIV. S. 39.

3) Nach Vergleichsversuchen mit Cyansäure schätze ich die bei der angewandten Versuchsanordnung nachweisbare Cyansäuremenge auf etwa 0,01 g.

im Thierkörper entstehenden Ammoniaks auf diesem Wege, so war auch bei künstlich zugeführtem Ammoniak und Cyanat die gleiche, sonst so leicht erfolgende Synthese zu erwarten. Da sie nach meinen Erfahrungen unter keinen Verhältnissen eintritt, so ist anzunehmen, dass cyansaures Salz im Organismus so rasch zersetzt wird, dass es, und zwar selbst bei Einbringung durch die Vene, nicht unverändert das Ammoniak in den Organen erreicht. Dieser leichte Zerfall der Cyansäure liess sich übrigens direct zeigen. Wurde das Natronsalz durch die Vene bei intacten Thieren eingefösst, so traten mit zunehmender Dosis Vergiftungserscheinungen ganz ähnlicher Art wie nach Zufuhr von Ammonsalzen ein, und der Harn enthielt reichliche Mengen von kohlensaurem und carbaminsaurem Ammon.

Diese Befunde sprechen entschieden gegen die Richtigkeit der Cyansäuretheorie. Die Anhydridtheorie wird von ihnen nicht berührt. Sichere Beweismittel für eine Entscheidung zwischen ihr und der oben entwickelten Annahme der Harnstoffbildung durch oxydative Synthese liegen im Augenblicke nicht vor. Doch dürfte die Ausnutzung der beim chemischen Versuche erhaltenen Fingerzeige für den Thierversuch, namentlich die Untersuchung der Frage nach der Herkunft der Kohlenstoffcomponente, in dieser Richtung Aufschluss bringen.
