

Acta Medica Okayama

Volume 2, Issue 2

1930

Article 16

DEZEMBER 1930

Die Basenausscheidung im Harne bei Zufuhr von Gallensaure

Shigeyoshi Yata*

Keizo Tanaka†

*Okayama University,

†Okayama University,

Die Basenausscheidung im Harn bei Zufuhr von Gallensaure*

Shigeyoshi Yata and Keizo Tanaka

Abstract

Aus 16.7 Liter Kaninchenharn wurden nach Zufuhrung von Cholsäure Arginin, Histidin und die Purinbasen Adenin, Hypoxanthin, Guanin sowie Xanthin in folgenden Mengeverhältnissen gefunden : Xanthin 90 mg Hypoxanthin-pikrat 23 mg Guanin 15 mg Adenin-pikrat 15 mg Arginin-pikrat 108 mg Histidin-pikrolonat, 72 mg Es ist bemerkenswert, dass der Harn bei Zufuhr von Gallensaure Arginin reichlicher aufweist als Histidin und unter den Purinbasen das Xanthin am reichlichsten vorkommt, Diese Tatsache scheint mir darauf zu beruhen, dass der gesamte Nukleinstoffwechsel im Kaninchenorganismus durch Zufuhr von Gallensaure eine Steigerung erfährt.

*Copyright (C) OKAYAMA UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL

Aus dem Physiologisch-chemischen Institut Okayama.
(Vorstand : Prof. Dr. T. Shimizu.)

Die Basenausscheidung im Harn bei Zufuhr von Gallensäure.

Von

Shigeyoshi Yata und Keizo Tanaka.

Eingegangen am 23. November 1930.

Es ist eine wohl bekannte Tatsache, dass die Nukleoproteide einen wesentlichen Bestandteil aller Zellkerne bilden und die Eiweisskörper, die mit der Nukleinsäure zu Nukleoproteid verbunden sind, dem Typus der Protamine sowie Histone angehören und vorwiegend aus den Diaminosäuren zusammengesetzt sind.

Karasawa (1926/27), *Hatakeyama* (1927), *Kobayashi* (1928) und *Takeji Okamura* (1928) haben experimentell bereits nachgewiesen, dass die Zufuhr von Gallensäure den Nukleinstoffwechsel des Kaninchens fördernd beeinflusst und die Gallensäure auf die Nuklease der Leber und des Darmes fördernd wirkt. Infolgedessen vermochte *Hatakeyama* (l. c.) zu zeigen, dass der experimentelle Stauungsikterus beim Kaninchen eine vermehrte Ausscheidung des Allantoins und der Phosphorsäure im Harn herbeiführt, indem beide parallel im Harn vermehrt werden. *Kobayashi* (l. c.) hat sogar gefunden, dass bei Zufuhr von Gallensäure und bei dem experimentellen Stauungsikterus des Kaninchens eine Pentose im Harn ausgeschieden wird, die als eine Kohlehydratgruppe der Nukleinsäure zu betrachten ist.

Die oben aufgeführten Tatsachen haben zu der Ansicht geführt, dass bei Zufuhr von Gallensäure oder bei deren überschüssigem Gehalte an Blut der Umsatz des mit den Nukleinsäuren gebundenen Eiweisses vermutlich gesteigert wird ; als Folge hiervon müssten entweder die Bestandteile solchen Eiweisses oder seiner Umwandlungsprodukte im Harn ausgeschieden werden.

Karasawa (l. c.) hat bereits beobachtet, dass bei Autolyse des Stier- und Schweinehodens, die beide bekanntlich reichliche Nukleoproteide enthalten, der Diaminosäurestickstoff im Autolysat bei Zufuhr von Gallensäure in einem Falle vermehrt gefunden wurde. Obwohl die verschiedenen Purinbasen von mehreren Autoren im Harn isoliert wurden, ist schon klargestellt worden, dass bei Menschen und Anthropoiden die Harnsäure und bei anderen Säugetieren das Allantoin überwiegend im Harn ausgeschieden wird.

S. Yuta u. K. Tanaka: Die Basenausscheidung im Harn bei Zufuhr usw. 305

Die beiden Purinbasen werden immer von einer kleinen Menge anderer Purinbasen begleitet, die sowohl aus endogenen als auch aus exogenen Nukleinbasen herkommen dürften. So haben *Krüger* u. *Salomon* (1895, 1898) sowie *Steudel* u. *Ellinghaus* (1923) aus Menschenharn verschiedene Purine wie Adenin, Epiguanin, Hypoxanthin, Xanthin u. s. w. isoliert. Im Schweineharn haben *Schittenhelm* u. *Bendix* (1906) ebenfalls dieselben Purinbasen und überdies Guanin gefunden. Was die Purinbasen im Harn des Kaninchens betrifft, so haben *Schittenhelm* u. *Bendix* (1904) sowie *Krüger* (1899) beobachtet, dass im normalen Harn des Kaninchens das Xanthin fehlt.

Seit *Kossel* weiss man, dass das Arginin durch Arginase in Harnstoff und Ornithin zerlegt wird, und dass diese Arginase je nach dem Organ in ganz verschiedenem Grade enthalten ist. Was die genetische Beziehung zwischen Arginin und Kreatin anbelangt, so haben *Jaffe* (1906), *Baumann* (1915, 1918), *Lieben* (1926), *Rose* (1925) durch übermässige Zufuhr von Arginin eine Vermehrung des Harnkreatins oder Harnkreatinins erzielt. Die Verfütterungsversuche von *György* und *Thannhauser* (1929) des Arginins an Säuglingen zeigten keine Vermehrung des Harnkreatins. Somit ist das Problem der Kreatinbildung aus Arginin noch keineswegs gelöst. *Ikoma* (1928) hat bei Muskelaulyse gefunden, dass bei Zusatz von Gallensäure der Arginingehalt des Muskels vermehrt, der Kreatingehalt dagegen vermindert wird. Auf Grund der vorliegenden Tatsachen kam er zu der Annahme, dass das Arginin im Muskel mit der Kreatinbildung, die nach *Rieser* (1916), *Kure* (1923) und *Akatsuka* (1927) von dem sympathisch innervierten Tonus der Muskeln abhängig ist, in innigem Zusammenhange steht. Neuerdings haben *Taku* u. *Kaziro* (1929) bewiesen, dass die Zufuhr von Gallensäure die Kreatininausscheidung im Harn herabsetzt und dass diese herabgesetzte Kreatininausscheidung auf der lähmenden Wirkung der Gallensäure auf das sympathische System beruht. *Okamura S.* hat an stauungsikterischen Kaninchen beobachtet, dass die Kreatininausscheidung im Harn sich vermindert. An Hand obiger Befunde ist man wohl zu der Ansicht gekommen, dass das Arginin, das als eine Muttersubstanz des Kreatins zu betrachten ist, durch Zufuhr von Gallensäure im Harn vermutlich ausgeschieden wird.

Im normalen Harn sind von *Emden* u. *Reese* (1906) vor allem Glykokoll nachgewiesen worden. Dann haben *Engeland* (1908) und *Hefter* (1925) Histidin gefunden. Im Harn schwangerer Frauen hat *Honda* (1924) auch Arginin, Lysin, Alanin, Leucin und Prolin beobachtet.

Bei pathologischen Zuständen wird die Aminosäureausscheidung im Harn bekanntlich gesteigert. So haben *Aberhalden* u. *Schittenhelm* (1905), *Ackermann* u. *Kutscher* (1911/12), *Garrod* (1906) sowie *Baumann* (1889) im Harn von Zystinurikern verschiedene Aminosäuren und

Ptomain gefunden. Aus dem Harn von phosphorvergifteten Tieren haben *Abderhalden* (1903/4), *Baumann* (1882) und *Wohlgemuth* (1905) verschiedene Aminosäuren isoliert.

Um im Sinne des in Obigem aufgeführten Tatsachenmaterials einerseits die Beziehung zwischen Arginin und Kreatinbildung zu verfolgen und andererseits einen genauen Einblick in die Wirkung der Gallensäure auf den Nukleinstoffwechsel zu gewinnen, haben wir die Purinbasen und Diaminosäuren im Harn des Kaninchens bei Zufuhr von Gallensäure untersucht.

Beschreibung der Versuche.

Kräftige männliche Kaninchen wurden täglich stets mit folgenden bestimmten Nahrungsmitteln gefüttert: 200 g Okara u. 50 g Gemüse.

Diesen Kaninchen wurden jeden Tag 3 cc einer 1%igen Natriumcholatlösung pro kg Körpergewicht subkutan verabreicht, und der Harn wurde unter Toluol gesammelt. Der gesammelte Harn betrug 16.70 Liter, und dieser wurde im Vakuum unter 40°C eingeeengt. Dabei schieden sich viele Harnstoffe und Salze von dem eingeeengten Harn ab, und durch Erkalten im Eisschrank erfolgten noch weitere Ausscheidungen. Das vom Niederschlag abfiltrierte Filtrat wurde mit Wasser in ca. 1 Liter verdünnt und so viel Schwefelsäure zugesetzt, dass das Filtrat ungefähr 5% davon enthielt.

Um die Fettsäure usw. zu entfernen, wurde diese Flüssigkeit mit Äther 72 Stunden lang mittels des *Kumagawa-Sudoschen* Apparates extrahiert und mit 20%iger Phosphorwolframsäurelösung ausgefällt. Die Fällung wurde als Basenfraktion und das Filtrat davon als Aminosäurefraktion bezeichnet.

Fällung der Purinbasen.

Die Phosphorwolframsäurelösung wurde durch Baryt zerlegt und die von überschüssigem Baryt befreite Flüssigkeit mit 20%iger Silbernitratlösung gefällt und filtriert. Diese Silberfällung wurde nach dem üblichen Verfahren in Chlorid verwandelt. Diese chloridhaltige Lösung wurde auf dem Wasserbade verdampft. Beim Digerieren des Rückstandes mit Wasser schied sich eine flockige Masse ab, und die Masse wurde abfiltriert. Die Masse ist gelblich; beim Erhitzen entweicht das Ammoniak und zeigt eine deutliche Xanthinreaktion sowie die *Weidelsche* Reaktion. Somit liegt Xanthin vor. Die Ausbeute betrug 45 mg.

Aus dem von Guanin befreiten Filtrat wurde unter Befreiung von Ammoniak durch Neutralisation mit Salzsäure und Zusatz von Natriumpikrat das Adeninpikrat ausgefällt. Die rohe Ausbeute betrug 15 mg.

Das von Adeninpikrat und Pikrinsäure befreite Filtrat wurde

wiederum mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt, und es wurden 45 mg amorphes Xanthin sowie 23 mg in gelben Tafeln kristallisiertes Hypoxanthinpikrat gewonnen.

Das auf solche Weise isolierte Xanthin zeigte prachtvolle Xanthinreaktion und *Weidelsche* Reaktion. Das Hypoxanthinpikrat zersetzte sich bei 250–260°C (unter Bräunung bei 200°C).

Die aufgefundenen Purinbasen und ihre Mengen sind die folgenden :

Xanthin	90 mg
Guanin	15 mg
Adeninpikrat	15 mg
Hypoxanthinpikrat	23 mg

Diaminosäurefraktion.

Das Filtrat der Silberfällung wurde wieder durch Silber und Baryt gefällt und diese Fällung nach Zerlegung wieder durch Kohlensäure und Sublimat ausgefällt. Diese Fällung wurde durch Schwefelwasserstoff von Quecksilber befreit, und aus dem Filtrat wurde durch Silber und Baryt Histidinsilber ausgefällt. Aus dieser Fällung wurde unter Befreiung von Silber durch Zusatz von alkoholischer Pikrolonsäurelösung Histidinpikrolonat gewonnen. Dieses kristallisierte in gelben Nadeln, und der aus heissem Wasser umkristallisierte Kristall schmolz bei 230°C. Die Ausbeute betrug 72 mg.

Das vom Histidinquecksilberniederschlag abgetrennte Filtrat wurde durch Schwefelwasserstoff von Quecksilber befreit und im Vakuum eingeeengt.

Aus dieser eingeeengten Lösung liess sich das Arginin als Pikrat ausscheiden. Nach dem Umkristallisieren wurden 108 mg Argininpikrat gewonnen, das bei 201°C schmolz. Somit sind folgende Diaminosäuren gewonnen :

Histidinpikrolonat	72 mg
Argininpikrat	108 mg

Aus dem von Arginin befreiten Filtrat wurde weder Cholin noch Lysin erhalten.

Es ist merkwürdig, dass die Diaminosäure bzw. das Arginin bei Zufuhr von Gallensäure im Kaninchenharn ausgeschieden wird. Oben wurde bereits gezeigt, dass bei Muskelaulyse des Kaninchens der Arginingehalt durch Zufuhr von Gallensäure vermehrt, der des Kreatins dagegen vermindert wird, was Argininausscheidung im Harn zur Folge haben dürfte. Es wurde indes auch gleichzeitig Histidin gefunden. Auf Grund dieser Tatsachen scheint mir das Vorkommen des Arginins im Kaninchenharn bei Zufuhr von Gallensäure hauptsächlich auf dem gesteigerten Nukleinstoffwechsel zu beruhen. Zur Klärung dieser Frage müssen weitere Untersuchungen angestellt werden. Was die Purinbasenausscheidung anbelangt, so wurde das Xanthin

der Menge nach an erster Stelle gefunden. Dies beweist, dass die Gallensäure den Nukleinstoffwechsel im Sinne einer vermehrten Oxydation gegenüber den Purinen fördert, weil das Allantoin im Harn des Kaninchenorganismus bei Stauungsikterus sich vermehrt, wie dies schon von *Hatakeyama* (l. c.) nachgewiesen worden ist.

Zusammenfassung.

Aus 16.7 Liter Kaninchenharn wurden nach Zuführung von Cholsäure Arginin, Histidin und die Purinbasen Adenin, Hypoxanthin, Guanin sowie Xanthin in folgenden Mengeverhältnissen gefunden:

Xanthin	90 mg
Hypoxanthin-pikrat	23 mg
Guanin	15 mg
Adenin-pikrat	15 mg
Arginin-pikrat	108 mg
Histidin-pikrolonat	72 mg

Es ist bemerkenswert, dass der Harn bei Zufuhr von Gallensäure Arginin reichlicher aufweist als Histidin und unter den Purinbasen das Xanthin am reichlichsten vorkommt. Diese Tatsache scheint mir darauf zu beruhen, dass der gesamte Nukleinstoffwechsel im Kaninchenorganismus durch Zufuhr von Gallensäure eine Steigerung erfährt.

Literatur.

- Abderhalden, E.* und *Schüttenhelm, A.*, Z. physiol. Chem. 45, 486, 1905. — *Abderhalden, E.* und *Bergell, P.*, Z. physiol. Chem. 39, 464, 1903. — *Abderhalden, E.* und *Barker, L. F.*, Z. physiol. Chem. 42, 524, 1904. — *Ackermann, D.* und *Kutcher, F.*, Z. f. Biolog. 57, 355, 1911/12. — *Akatsuka H.*, Jl. of Biochem. 8, 57, 1928. — *Baumann, L.* und *Marker, J.*, Jl. of Biolog. Chem. 22, 49, 1915. — *Baumann, L.* und *Hines, H. M.*, Jl. of Biolog. Chem. 35, 75, 1918. — *Baumann, E.* und *Udransky, L. V.*, Z. physiol. Chem. 13, 562, 1889. — *Baumann, E.*, Z. physiol. Chem. 6, 192, 1882. — *Emden, O.* und *Reese, H.*, Hoffmeisters Beiträge 74, 11, 1906. — *Engelard, R.*, Z. physiol. Chem. 57, 49, 1908. — *Garrod, A. E.* und *Hurtley, W. H.*, Jl. of Physiol. 34, 217, 1906. — *György, P.* und *Thannhauser, S. J.*, Z. physiol. Chem. 180, 286, 1928. — *Hatakeyama, T.*, Jl. of Biochem. 7, 145, 1927. — *Hefter, J.*, Z. physiol. Chem. 145, 290, 1925. — *Honda, M.*, Acta Scholae med. Kyoto 6, 405, 1924. — *Ikoma, S.*, Okuyama Igakkai-Zasshi 40. Jg. 890, 1928. — *Jaffe, M.*, Z. physiol. Chem. 48, 430, 1930. — *Karasawa, R.*, Jl. of Biochem. 6, 139, 1926. — *Kaziro, K.* und *Taku, A.*, Jl. of Biochem. 11, 203, 1929 u. 12. Nr. 3, 1930. — *Kobayashi, T.*, Jl. of Biochem. 9, 251, 1928. — *Krüger, M.* und *Salomon, G.*, Z. physiol. Chem. 21, 169, 1895, 24, 364, 1898 u. 26, 359, 1898. — *Krüger, M.* und *Schmidt, P.*, Ber. d. deut. chem. Gesellschaft 32, 2677, 1899. — *Kure, K.*, Shinkeigaku-Zasshi 23, 367, 1923. — *Lieben, Fr.* und *Lästle, D.*, Bioch. Zeitschr. 176, 403, 1926. — *Okamura, S.*, Jl. of Bioch. 11, 285, 1929. — *Okamura, Takeji.*, Jl. of Bioch. 8, 391, 1928. — *Rieser, O.*, Arch. f. exp. Path. und Pharm. 80, 183, 1916. — *Rose, W. C.* und *Cook, K. G.*, Jl. of Biolog. Chem. 64, 325, 1925. — *Schüttenhelm, A.* und *Bendix, E.*, Z. physiol. Chem. 43, 365, 1904. — *Steudel, H.*, Z. physiol. Chem. 124, 267, 1923. — *Steudel, H.* und *Ellinghaus, J.*, Z. physiol. Chem. 127, 291, 1923. — *Wohlgemuth, J.*, Z. physiol. Chem. 44, 74, 1905.