

# Zur Chemie des Zellkerns.

Von

**Dr. A. Kossel.**

(Der Redaktion zugegangen am 1. August 1882).

## I. Quantitative Bestimmungen des Nucleins.

Gesetzmässige quantitative Beziehungen die innerhalb lebender Organe zwischen der Phosphorsäure einerseits und N-haltigen Substanzen andererseits obwalten, haben mehrfach das Interesse der Physiologen auf sich gelenkt. Im Pflanzenreich beobachtete man, dass zugleich mit der Neubildung stickstoffhaltiger Gewebstheile auch eine Zunahme der Phosphorsäure in den betreffenden Organen erfolge<sup>1)</sup>.

Im Thierreiche führten quantitative Untersuchungen über die Ausscheidungsprodukte zu einem ähnlichen Ergebnisse. Man fand, dass der Urin eines hungernden Organismus auf eine bestimmte Menge Stickstoff auch eine bestimmte Menge Phosphorsäure enthält. Man erkannte ferner, dass unter solchen Verhältnissen, wo der Körper mehr Stickstoff in der Nahrung aufnimmt, als er im Harn ausscheidet, auch die Menge der Phosphorsäure in der Nahrung grösser ist, als in den Excreten<sup>2)</sup>. Es ergibt sich hieraus der Schluss, dass mit dem Ansatz von stickstoffhaltigem Material auch ein Ansatz von Phosphorsäure Hand in Hand geht.

<sup>1)</sup> Vergleiche z. B. Maier: Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. CI, (N. R., Bd. XXV) S. 162, 163); ferner Corenwinder: Annales des sciences naturelles, Botanique, IV<sup>e</sup> sér. T. XIV, 1860, S. 44; und andere Autoren.

<sup>2)</sup> E. Bischoff: Zeitschrift für Biologie, Bd. III, S. 309, 1867.

Diese und ähnliche Erscheinungen riefen die Vorstellung von einer Verbindung der Eiweisskörper mit Phosphaten<sup>1)</sup>, oder mit Phosphorsäure hervor. Man vernachlässigte indess bei fast allen Erörterungen, die sich an diese Frage knüpften, die Existenz der organischen Phosphorsäure-Verbindungen, des Lecithins und Nucleïns, obwohl die von Hoppe-Seyler, Diakonow, Miescher und Anderen gewonnenen Resultate — insbesondere die weite Verbreitung des Lecithins und die Beziehungen des Nucleïns zum Zellkern — dazu auffordern mussten, jene Substanzen mit allgemeineren physiologischen Erscheinungen in Zusammenhang zu bringen.

Die Frage, ob das Nucleïn bei den erwähnten Vorgängen beteiligt ist, hat die folgenden Versuche veranlasst.

Aus meinen früheren Untersuchungen glaube ich schliessen zu müssen, dass die Nucleïne ihrer chemischen Zusammensetzung nach wohl geeignet sind, für die Erklärung der besprochenen Erscheinungen herbeigezogen zu werden. Unter ihren Spaltungsprodukten fand ich einen Körper, welcher ungefähr die procentische Zusammensetzung der Eiweisskörper zeigt und welcher die gleichen Zersetzungsprodukte wie jene, Leucin, Tyrosin, Indol, liefert. Eine solche Substanz — eine Verbindung, die neben Phosphorsäure noch einen eiweissartigen Atomcomplex enthält — hatte man ja hypothetisch construirt, um jene quantitativen Beziehungen zwischen den gewebsebildenden Stoffen zu erklären.

Hingegen liegen bis jetzt nur wenige Anhaltspunkte vor, um zu entscheiden, ob das Nucleïn auch seiner Quantität nach genüge, um bei Erörterung dieser Verhältnisse überhaupt in Betracht zu kommen. Die folgenden Versuche geben hierüber Aufschluss.

#### Verfahren zur quantitativen Bestimmung des Nucleïns.

Für die Bestimmung des Nucleïns ist bisher vorzugsweise die Widerstandsfähigkeit dieser Substanz gegen die

<sup>1)</sup> Voit: Physiologie des allgemeinen Stoffwechsels und der Ernährung (Hermann's Handbuch der Physiologie, Bd. VI.) S. 79.



Tabelle I.

Organ.	Species.	Quantität des untersuchten Organs.		Gefundene Menge der		Procentgehalt (bezogen auf das feuchte Organ).		Verhältniss der Nuclein-Phosphorsäure zur Gesamt-H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> . Letztere = 100	Hypoxanthin-gehalt des betreffenden Organs in Procenten des feuchten Organs.	Bemerkungen.
		Zur Bestimmung der Gesamt-H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Zur Bestimmung der Nuclein-Phosphorsäure.	Gesamt-Phosphorsäure.	Nuclein-Phosphorsäure.	Gesamt-H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Nuclein-H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>			
Milz.	Pferd . . . . .	52,6		0,6114	0,4560	1,162	0,867	<b>74,6</b>	0,096 <sup>1)</sup>	Milzen von verschiedenen Individuen.
Milz.	Pferd . . . . .	40,8		0,3417	0,2418	0,837	0,593	<b>70,9</b>	—	
Milz.	Rind . . . . .	12,1	20,27	0,1216	0,1291	1,005	0,636	<b>63,3</b>	—	Controllbestimmungen an derselben Milz. Die Bestimmung der Gesamt-Phosphorsäure ist nicht doppelt ausgeführt
Milz.	Rind . . . . .	12,1	15,98	0,1216	0,1081	1,005	0,676	<b>67,3</b>	—	
Leber.	Hund . . . . .	63,0		0,5332	0,2798	0,846	0,444	<b>52,5</b>	0,082 <sup>2)</sup>	—
Leber.	Rind . . . . .	23,05		0,2923	0,0899	1,267	0,390	<b>30,8</b>	—	—
Leber.	Huhn (hungernd) .	15,1		0,1625	0,0771	1,077	0,511	<b>47,4</b>	—	—
Leber.	Huhn (gut genährt).	16,04		0,1338	0,0424	0,834	0,264	<b>31,7</b>	—	—
Pancreas Nr. 1.	Rind . . . . .	20,69		0,2601	0,1199	1,257	0,580	<b>46,1</b>	—	Controllbestimmungen an demselben Pancreas.
Pancreas Nr. 2.	Rind . . . . .	22,93		0,2786	0,1389	1,215	0,606	<b>49,9</b>	—	
Eiter Nr. 1.	Mensch . . . . .	5 cc.	30 cc.	0,0273	0,0463	0,546	0,154	<b>28,2</b>	—	Eiterzellen gut erhalten.
Eiter Nr. 2.	Mensch . . . . .	46 cc.	30 cc.	0,1095	0,0433	0,238	0,144	<b>60,0</b>	—	
Eiter (degenerirt).	Mensch . . . . .	—	—	(nicht bestimmt.)	Spuren.	—	—	—	—	—
Leukämisches Blut.	Mensch . . . . .	59 gr.	55 cc.	0,3271	0,1688	0,554	0,286	<b>51,6</b>	0,104	—
Normales Blut.	Mensch . . . . .	—	12,32	(nicht bestimmt.)	Spuren.	—	—	—	—	Durch Schröpfkopf entnommen.
Niere.	Rind . . . . .	11,05	13,12	0,0838	0,0374	0,7584	0,285	<b>37,6</b>	0,053 <sup>3)</sup>	—
Hoden.	Stier . . . . .	9,09	14,5	0,0606	0,0306	0,666	0,211	<b>31,0</b>	0,045 <sup>4)</sup>	—
Gehirn	Schaf . . . . .	7,30	15,68	0,0820	0,0492	1,123	0,3136	<b>27,9</b>	0,027 <sup>5)</sup>	—
Embryonaler Muskel	Rind . . . . .	11,32	16,42	0,0523	0,0244	0,462	0,1490	<b>32,2</b>	0,068 <sup>6)</sup>	Länge des Embryos von Schnauze bis Schwanzwurzel 28 cm.
Muskel.	Rind . . . . .	12,84	20,27	0,0783	0,0187	0,610	0,0923	<b>15,1</b>	0,048 <sup>7)</sup>	
Muskel.	Huhn (hungernd) .	17,9		0,150	0,0097	0,838	0,0542	<b>6,5</b>	0,0726 <sup>8)</sup>	—
Muskel.	Huhn (gut genährt) .	16,74		0,111	0,0073	0,663	0,0442	<b>6,7</b>	0,129 <sup>8)</sup>	—

1) Mensch und Hund.

2) Hund.

3) Hund.

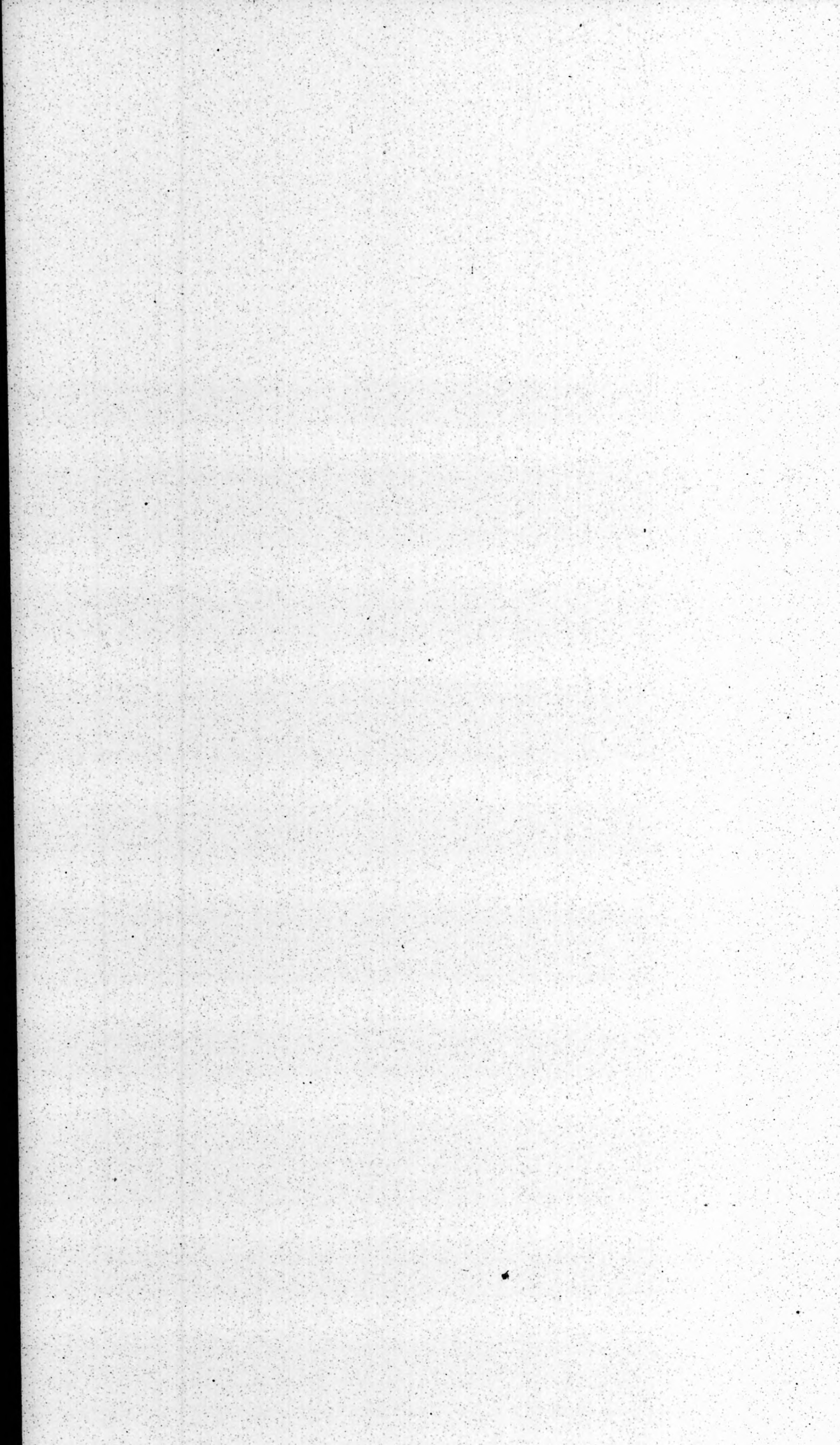
4) Stier.

5) Mensch.

6) Pferd.

7) Mensch.

8) Huhn.





Einwirkung des Pepsins angewandt worden. Da die Nuclein-Substanzen durch die Digestion mit Magensaft langsam zersetzt werden, da es ferner andere stickstoffhaltige Körper gibt, welche gegen den Magensaft resistent sind, so sind Fehler hier unvermeidlich. Diese Fehler würden sehr beträchtlich sein, wenn nicht das nächste (eiweissartige) Zersetzungsprodukt des Nucleins, wie ich früher dargethan habe<sup>1)</sup>, ebenfalls sehr resistent gegen Pepsin wäre. Die Pepsinverdauung ist in den Fällen anzuwenden, wo es sich darum handelt, eine Vorstellung zu gewinnen über das Gesamtgewicht des Nucleins oder über die Menge des in Form von Nuclein vorhandenen Stickstoffs.

Dagegen verdient das folgende Verfahren den Vorzug für diejenigen Fälle, in welchen man die Menge der Phosphorsäure des Nucleins erfahren will. Leider ist es noch nicht möglich, aus der Nuclein-Phosphorsäure eines Organs ohne Weiteres den Gehalt an Nuclein zu berechnen, da der Phosphorgehalt der verschiedenen Nucleine noch nicht mit hinreichender Sicherheit festgestellt ist.

Das von mir angewandte Verfahren war folgendes: Etwa 15 gr. des betreffenden (frischen) Organs werden feinhackt und gewogen, sodann in einer geräumigen Reibschale mit ein wenig Gerbsäurelösung und ungefähr 10 cc. gewöhnlicher verdünnter Salzsäure übergossen und mit dem Pistill gut durchgeknetet. Die rothe Farbe der Organe geht vollkommen in eine ledergelbe über, die Organe selbst müssen bröckelig und leicht zerdrückbar, die Flüssigkeit gut filtrirbar sein. Der Brei wird jetzt durch ein möglichst kleines Filter von aschearmem Papier filtrirt und mit 1—1½ Liter sehr verdünnter Salzsäure, (ca. 1½ Stunden) dann mit siedendem Alkohol, zuletzt mit Aether extrahirt. Von den letzten Portionen des alkoholischen und ätherischen Extractes werden Proben eingedampft und mit Soda und Salpeter verascht, diese dürfen höchstens noch geringe Spuren von Phosphorsäure enthalten<sup>2)</sup>. Die extrahirte Organmasse wird äther-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift Bd. IV, S. 291, 292.

<sup>2)</sup> Diese Vorsichtsmassregel habe ich nur bei einem Theil meiner Analysen angewandt.

feucht in eine grosse Platinschale gebracht und der Aether entzündet. War die Extraction eine genügende, so brennt derselbe ohne Knistern ab, und bringt die Substanz zugleich grösstentheils zur Verkohlung. Die Kohle wird mit Soda und Salpeter gemengt und völlig verbrannt, in der Schmelze nach bekannten Vorschriften die Phosphorsäure bestimmt. Die so erhaltene Phosphorsäure ist in Folgendem als Nuclein-Phosphorsäure bezeichnet.

Zur Bestimmung der Gesamt-Phosphorsäure wird entweder eine zweite Portion des betreffenden Organs abgewogen oder es wird das wässerige und ätherische Filtrat und Waschwasser benutzt, dessen Phosphorsäure-Gehalt nach dem Veraschen mit Soda und Salpeter bestimmt und zu der Nuclein-Phosphorsäure hinzuaddirt wird. Ersteres Verfahren ist bequemer.

Für die Bestimmung der Nuclein-Phosphorsäure im Eiter (Nr. 1) und in der Hefe war die Gerbsäure nicht in Anwendung gezogen, sondern in folgender Weise verfahren: Ungefähr 30 cc. des Eiters oder 50 cc. des mit Wasser aufgerührten Hefebreis wurden mit verdünnter Natronlauge bis zur trüben Lösung versetzt, dann ohne zu filtriren ein Ueberschuss von Salzsäure und das gleiche Volum Alkohol hinzugefügt, der Niederschlag abfiltrirt, anfangs mit kaltem, dann mit siedendem Alkohol ausgewaschen, endlich mit Soda und Salpeter verascht. Bei den verschiedenen Portionen Hefe wurde stets die gleiche Quantität Natronlauge (5 cc. Normal-lauge) und Salzsäure verwandt.

Die Quantität der in dieser Weise gefundenen Nuclein-Phosphorsäure wurde in allen Fällen mit folgenden Werthen verglichen:

- 1) mit dem Gewicht des feuchten Organs;
- 2) mit der Gesamt-Menge der Phosphorsäure des betreffenden Organs.

Da der Wassergehalt einzelner Organe ein sehr wechselnder ist, so glaube ich das Hauptgewicht auf das Verhältniss der Nuclein-Phosphorsäure zur Gesamt-Phosphorsäure legen zu müssen.



Um über die Genauigkeit der Methode ein Urtheil zu gewinnen, wurden in einzelnen Fällen Doppelbestimmungen ausgeführt, nämlich in Pancreas und Milz vom Rind. Die Resultate sind aus der Tabelle I ersichtlich. Dem Pancreas Nr. 2 war, um die Methode zu prüfen, eine bekannte Menge phosphorsaures Natron zugefügt. Dieselbe ist bei Berechnung der Resultate wieder von der Gesamt-Phosphorsäure in Abzug gebracht.

In der Tabelle I befinden sich ausserdem eine Reihe von Zahlen, welche den Hypoxanthingehalt der betreffenden Organe angeben. Die Vergleichung dieser Zahlen mit den Nuclein-Bestimmungen wird durch folgende Umstände etwas beeinträchtigt:

- 1) sind dieselben nicht stets an der gleichen Thierspecies wie die Nuclein-Bestimmungen ausgeführt;
- 2) wird durch die bisher zur Bestimmung des Hypoxanthins gebräuchliche Methode in manchen Fällen ein mit Guanin verunreinigtes Präparat erhalten.

(Tabelle I beiliegend).

### Resultate der Untersuchung.

Eine Bestätigung dafür, dass die gefundenen Phosphorsäure-Zahlen wirklich dem Nuclein-Gehalt der betreffenden Organe entsprechen, liefert die Vergleichung derselben mit dem mikroskopisch erkennbaren Kernreichthum der betreffenden Gewebe. Die kernreichsten Organe (Milz, Leber, Pancreas) geben bei der Analyse viel, kernarme Gewebe (Blut und Muskeln) wenig Nuclein-Phosphorsäure. Besonders auffallend ist das Verhältniss des leukämischen Bluts zum normalen, ferner die Vergleichung des Muskels im erwachsenen Zustand mit dem kernreicheren embryonalen Muskel, endlich die für den frischen Eiter gefundene Zahl gegenüber der des degenerirten Eiters<sup>1)</sup>. Das vorliegende Material ist freilich noch wenig reichhaltig, aber es berechtigt zu der Hoffnung, dass durch die chemischen Untersuchungen über die Nucleinsubstanzen das Prinzip einer Methode gegeben

<sup>1)</sup> Virchow: Cellularpathologie 1871, S. 421.

ist, welche gestattet, für die bisher nur dem Raume nach geschätzte Masse des Zellkerns einen Ausdruck in Gewichtszahlen zu erhalten.

Ausser der Phosphorsäure treten, wie ich nachgewiesen habe, als charakteristische, den Eiweissstoffen nicht zukommende Zersetzungsprodukte der Nucleine noch Guanin, Hypoxanthin und Xanthin auf. Es liegt also der Gedanke nahe, auch diese Stoffe zur quantitativen Bestimmung der Nucleine zu benutzen. Die Tabelle zeigt, dass ein solches Verfahren nicht anwendbar ist. Während man in den meisten inneren Organen desto mehr Hypoxanthin findet, je grösser der Nuclein-Gehalt ist, zeigen die Muskeln eine solche Proportionalität nicht. In den Muskeln des Huhnes ist der Nuclein-Gehalt ein äusserst geringer, dagegen der Hypoxanthin-Gehalt ein excessiver. Ausserdem ist bereits früher von mir hervorgehoben<sup>1)</sup>, dass es Körper gibt, die man ihren Eigenschaften nach mit Recht als Nuclein bezeichnet (Nuclein der Kuhmilch, des Eidotters), die aber bei der Zersetzung weder Hypoxanthin noch Xanthin oder Guanin liefern. Diese beiden Nucleine stehen freilich zu den übrigen Angehörigen dieser Gruppe insofern in einem Gegensatz, als sie nicht aus zellenreichem, lebensfähigem Gewebe stammen; also nicht Bestandtheile des Zellkerns sein können.

Eine Beziehung der Nucleine zu bestimmten physiologischen Funktionen zu erkennen, wäre um so werthvoller, da damit zugleich ein Licht auf die Funktion des Zellkerns geworfen wäre. Die Tabelle zeigt, dass diejenigen Organe, deren Thätigkeit wir hauptsächlich Ernährungs- und Neubildungsprozesse im thierischen Organismus zuschreiben (z. B. Leber, Milz) weit mehr Phosphorsäure in Form des Nucleins enthalten als die locomotorischen Apparate (Muskeln).

Um das Verhalten des Nucleins bei verschiedenen Ernährungszuständen zu erkennen, wurden Hungerversuche an Hühnern und Tauben angestellt.

<sup>1)</sup> Untersuchungen über die Nucleine und ihre Spaltungsprodukte. Strassburg 1881. S. 12.



Sechs Hühner wurden acht Tage lang reichlich mit Körnern gefüttert, drei derselben, deren Gewicht in Summa 3947 gr. betrug, wurden am 18. Mai getödtet, die drei übrigen blieben bis zum 25. Mai ohne feste Nahrung, dann wurden sie ebenfalls getödtet. Das Gesamt-Gewicht der letzteren hatte während dieser Zeit von 3955 gr. auf 3452 gr. abgenommen, das Fett war bei ihnen noch nicht vollständig geschwunden. Die Lebern und die Brustmuskulatur der drei an demselben Tage getödteten Individuen wurden vereinigt, fein gehackt und in denselben:

- 1) Stickstoffgehalt;
- 2) Wassergehalt;
- 3) Nuclein-Phosphorsäure;
- 4) Hypoxanthin- und Xanthin<sup>1)</sup>

bestimmt.

Die Bestimmung des Stickstoffs ergab folgende Resultate für 100 gr. feuchten Gewebes berechnet:

Tabelle II.

Organ.	Gut genährte Thiere.	Hungernde Thiere.
Leber . .	4,41%	4,25%
Muskel . .	4,41 «	4,45 «

Die Bestimmung der Trockensubstanz ergab:

Tabelle III.

Organ.	Gut genährte Thiere.	Hungernde Thiere.
Leber . .	39,5%	29,5%
Muskel . .	27,0 «	27,4 «

Wie aus der Tabelle I ersichtlich, ist eine bemerkenswerthe Aenderung in Bezug auf die Nuclein-Phosphorsäure in den Muskeln nicht vorhanden, wohl aber in der Leber. Hieraus ergibt sich, dass die Nuclein-Phosphorsäure während des Hungerzustandes weniger leicht dem Gewebe entzogen wird, als die übrigen Phosphorsäure-Verbindungen.

<sup>1)</sup> Siehe unten, S. 20.

Diese Versuche geben freilich noch keinen Aufschluss darüber, ob überhaupt in den Geweben solcher Organismen, welche gezwungen sind, von ihrer eigenen Körpersubstanz zu leben, eine Zersetzung von Nuclein stattfindet. Für die Entscheidung dieser Frage dienten Versuche an Hefe.

Lässt man Hefe mit Wasser einige Stunden bei warmer Temperatur stehen, so tritt bekanntlich Kohlensäure-Entwicklung auf, das Wasser wird sauer, enthält bald Phosphorsäure, Leucin, Tyrosin, Hypoxanthin u. s. w. — genug, es zeigen sich chemische Vorgänge ohne gleichzeitige Aufnahme von Nahrungstoff. Für die folgenden Versuche wurden je drei Portionen Hefe abgewogen, jede Portion für sich mit Wasser angerührt. In der einen Portion wurde das Verhältniss der Nuclein-Phosphorsäure zur Gesamt-Phosphorsäure sofort bestimmt, in einer zweiten und dritten nach längerer Digestion bei Zimmertemperatur oder bei 38°.

#### Versuch A. Digestion bei Zimmertemperatur.

Gesamt-Phosphorsäure = 100

Nuclein-Phosphorsäure:

1. In der ursprünglichen Hefe . . . . .	a) = 60,8
	b) = 58,3
2. Nach 48-stündiger Digestion. . . . .	= 56,4

#### Versuch B. Digestion bei 38°.

Gesamt-Phosphorsäure = 100

Nuclein-Phosphorsäure:

1. In der ursprünglichen Hefe . . . . .	= 54,4
2. Nach 20 Stunden . . . . .	= 48,1
3. Nach 44 Stunden . . . . .	= 43,9

In Versuch A fällt die Abnahme der Nuclein-Phosphorsäure noch in die Fehlergrenzen, in Versuch B nicht. Dieser Versuch zeigt, dass eine Zersetzung des Nucleins unter den angegebenen Verhältnissen wohl erfolgt, aber diese Zersetzung ist im Vergleich zu den übrigen Veränderungen, welche die Hefe hier erleidet, eine sehr geringe.



Die Vorstellung, dass das Nuclein ein «Reservestoff» sei, auf dessen Kosten ein hungernder Organismus lebt, muss nach allen Versuchen als unwahrscheinlich zurückgewiesen werden. Die Quantität des Nucleins wechselt wenig, ob der Organismus hungert oder nicht.

Morphologische Befunde weisen bereits darauf hin, dass wir die physiologischen Funktionen des Nucleins wahrscheinlich in einer anderen Richtung zu suchen haben, nämlich in einer Beziehung zur Neubildung der Gewebe. «Mir war in dieser Beziehung», so äussert sich ein berühmter Botaniker<sup>1)</sup>, «immer die allgemein bekannte Thatsache von Interesse, dass in den Vegetationspunkten die Zellkerne einen auffallend grossen Raum einnehmen, die kleinen Zellen fast erfüllen, also einen erheblichen Bruchtheil der Masse embryonalen Gewebes darstellen.... Vergleicht man mit diesen Thatsachen die höchst untergeordnete Rolle, welche die Zellkerne in ausgewachsenen grossen Parenchymzellen spielen, wo ihre Masse gegenüber der des sonstigen Zellinhalts kaum in Betracht kommt, so muss die Anhäufung der Zellkernsubstanz im Gewebe der Embryonen und Vegetationspunkte um so mehr auffallen, da nur diese Theile der Pflanzen die Fähigkeit haben, neue Organe zu erzeugen.»

Aehnliche Gesichtspunkte bewogen mich, den Nuclein-Gehalt eines schnell wachsenden embryonalen Muskels mit dem eines fast erwachsenen Individuums zu vergleichen. Im ersteren Falle ist der Nuclein-Gehalt, wie die Tabelle I zeigt, erheblich grösser als im letzteren.

## II. Bildung von Guanin aus Nuclein, Verhalten der stickstoffreichen Basen des Thierkörpers unter physiologischen und pathologischen Bedingungen.

Von früheren Autoren, hauptsächlich von Salomon, ist der Ursprung des Hypoxanthins und Xanthins im Thierkörper bekanntlich in falscher Richtung, nämlich in den Eiweisskörpern gesucht werden. Nachdem ich gezeigt hatte,

<sup>1)</sup> Sachs: Stoff und Form der Pflanzenorgane. Arbeiten aus dem botanischen Institute in Würzburg. Bd. II, S. 716.

dass das Nuclein als die Quelle dieser Körper im Organismus anzusehen ist, sind alle Experimente, die man für die Bildung dieser Substanzen aus den Eiweisskörpern angeführt hat, hinfällig geworden. Salomon hat meine Beweise anerkannt und damit seine frühere Ansicht zurückgezogen<sup>1)</sup>.

Ich habe ferner gezeigt, dass thierische und pflanzliche Organe beim Kochen mit Säuren mehr Hypoxanthin und Xanthin liefern, als man nach Salomon's Versuchen bei der Zersetzung einer entsprechenden Menge Eiweiss erwarten durfte, dass ferner die Quantität dieser Stoffe in den Organen eine weit grössere ist, als man bisher annahm. Meine Untersuchungen, die sich über eine grössere Zahl von Thier- und Pflanzenstoffen erstreckten, wurden nachträglich und theilweise von Salomon durch Mittheilung zweier Analysen<sup>2)</sup> bestätigt.

Ich würde diese Auseinandersetzungen unterlassen haben, wenn die besprochenen Verhältnisse nicht von Herrn Salkowski eine Darstellung erfahren hätten, welche dazu angethan ist, die bereits klar gelegten Thatsachen wieder zu verdunkeln. Herr Salkowski spricht in einem kürzlich erschienenen Buche<sup>3)</sup> von der Bildung des Hypoxanthins aus Eiweiss wie von einer sicherstehenden Thatsache und sucht die Resultate meiner Arbeiten als etwas Nebensächliches zu behandeln.

Als Begleiter des Hypoxanthins und Xanthins findet sich in vielen thierischen Organen und ebenso in der Hefe<sup>4)</sup> das Guanin, ein Körper, der durch Einwirkung der Salpetersäure in Xanthin übergeführt wird. Es ist mir gelungen nachzuweisen, dass das Guanin neben dem Hypoxanthin und Xanthin aus dem Nuclein entsteht.

Zu den folgenden Versuchen wurde Nuclein aus Gänseblut angewandt. Die Darstellung dieses Nucleins habe ich

<sup>1)</sup> Salomon: Verhandlungen der physiologischen Gesellschaft in Berlin 1881, Nr. 12—14.

<sup>2)</sup> Loc. cit.

<sup>3)</sup> Die Lehre vom Harn von Salkowski und Leube. S. 98, 99, 106. Berlin 1882.

<sup>4)</sup> Cf. diese Zeitschrift, Bd. VI, S. 431.



bereits früher<sup>1)</sup> beschrieben. Ungefähr 20 gr. lufttrockenen Nucleïns wurden mit 2 Liter Wasser und 10 cc. concentrirter Schwefelsäure drei Stunden im Dampfkochtopf erhitzt, die Flüssigkeit abfiltrirt, mit Barytwasser übersättigt, überschüssiger Baryt durch Kohlensäure entfernt. Die vom kohlensauren Baryt abfiltrirte Lösung wurde mit Ammoniak stark alkalisch gemacht. Zu der trüben Flüssigkeit, ohne zu filtriren, Silbernitrat hinzugefügt, der Niederschlag nach kurzer Zeit abfiltrirt. Dieser Niederschlag wurde jetzt in Salpetersäure vom specifischen Gewicht 1,1 eingetragen und mit derselben fast bis zum Sieden erhitzt. Um eine Einwirkung der heissen Salpetersäure auf das noch unreine Guanin zu vermeiden, ist es nothwendig, in der Salpetersäure vorher etwas Harnstoff aufzulösen. Die salpetersaure Lösung wurde heiss filtrirt, das Filtrat mit etwas Silbernitrat versetzt. Es scheidet sich beim Erkalten ein weisser Niederschlag aus, der aus den Silberverbindungen des Guanins und Hypoxanthins besteht.

Derselbe wurde nach 12 Stunden abfiltrirt, mit Wasser ausgewaschen, mit Schwefelwasserstoff zersetzt, die vom Schwefelsilber abfiltrirte Flüssigkeit eingedampft und mit Ammoniak aufgenommen. Hypoxanthin geht in Lösung, der in Ammoniak unlösliche Theil zeigte alle Eigenschaften des Guanins. Das Gewicht dieses Rückstandes betrug 0,161 gr., also 0,8% des zersetzten Nucleïns.

Aus dem Guanin wurde die charakteristische pikrinsaure Verbindung nach Capranica dargestellt, die Hauptmenge wurde in das salzsaure Salz übergeführt.

Dasselbe krystallisirte beim Eindampfen der salzsauren Lösung in feinen langen, radial gruppirten Nadeln. Die salzsaure Lösung war durch Ammoniak fällbar. Die Krystalle wurden mit Ammoniak übergossen und mit dem durch Ammoniak in der salzsauren Lösung erzeugten Niederschlag vereinigt, abfiltrirt, anfangs mit schwach ammoniakalischem Wasser, zuletzt mit Alkohol ausgewaschen. Der unlösliche

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. V, S. 152. Untersuchungen über die Nucleïne und ihre Spaltungsprodukte von A. Kossel. S. 6.

Rückstand bei 110° getrocknet, diente zu einer Stickstoffbestimmung, die Menge des Stickstoffs entsprach einer Verbindung von einem Molekül Guanin mit einem Molekül Ammoniak.

Berechnet für	Gefunden
$C_5 H_5 N_5 O + NH_3$	
50,0	50,1

Dass die analysirte Substanz Ammoniak enthielt, konnte auf folgende Weise mit ammonfreien Reagentien nachgewiesen werden. Die schwach salpetersaure Lösung wurde mit Silbernitrat gefällt, filtrirt, das Filtrat durch Salzsäure vom Silber befreit, filtrirt, Filtrat und Waschwasser etwas eingedampft und mit alkoholischer Lösung von Platinchlorid versetzt. Es entstand ein reichlicher Niederschlag von Ammoniumplatinchlorid. Die Bildung dieser Ammoniakverbindung des Guanins hängt übrigens von noch unbekanntem Bedingungen ab, früher hatte ich bei ähnlicher Darstellungsweise reines Guanin erhalten.

Das zur Aufsuchung des Guanins hier benutzte Verfahren ist einer allgemeineren Anwendung fähig<sup>1)</sup>. Ich habe mich durch Versuche an Milz und Hoden überzeugt, dass durch die Gegenwart des Harnstoffs die Bildung des früher besprochenen<sup>2)</sup> Nitrokörpers vollständig vermieden wird.

Dieselbe Schlussfolgerung, die ich früher aus der Bildung von Hypoxanthin aus Nuclein gezogen hatte, ergibt sich jetzt auch für das Guanin: man erhält die volle Quantität des in den Organen befindlichen Guanins erst durch Kochen mit Säure, da mindestens ein Theil des Guanins in gebundenem Zustande in den Organen enthalten ist. Ich gedenke diese Thatsache weiterhin durch quantitative Bestimmungen zu bestätigen, ebenso wie ich es in Bezug auf das Hypoxanthin gethan habe. Ich halte dies um so mehr für nothwendig, da ich vermuthe, dass die früher von mir für

<sup>1)</sup> Nur dürfte es zweckmässiger sein, dem Ueberschuss des Baryts nicht durch  $CO_2$ , sondern durch Schwefelsäure zu entfernen, um zu vermeiden, dass ein Theil des Guanins vom Baryt zurückgehalten wird.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. VI, S. 425.



das Hypoxanthin gegebenen Zahlen in Folge der Benennung von Guanin ein wenig zu hoch sind.

Eine weitere Schlussfolgerung ergibt sich aus den angeführten Versuchen mit Berücksichtigung der Thatsache, dass das Guanin durch Oxydation Guanidin und dieses Harnstoff bildet. Man kann die Substanzen, die somit in eine genetische Beziehung zu einander gebracht sind, in eine Reihe ordnen, deren letztes Glied auf der einen Seite der Harnstoff, auf der anderen der Zellkern ist.

Eine durch alle Organe verbreitete Quelle, welche uns den Harnstoff ohne synthetische Eingriffe, nur durch Oxydation und Spaltung liefert, darf bei allgemeineren Betrachtungen über die physiologische Bildung des Harnstoffs nicht vernachlässigt werden. Die Versuche Kerner's<sup>1)</sup> haben gezeigt, dass die Bildung von Harnstoff aus Guanin im Thierkörper sich selbst durch Fütterungs-Experimente demonstrieren lässt.

Wir können an dieser Stelle eine Beziehung des Hypoxanthins zur Bildung der Harnsäure nicht unerwähnt lassen. Aus den Zahlen der Tabelle I ist ersichtlich, dass die Muskeln solcher Organismen, welche, als Hauptprodukt des Stoffwechsels die Harnsäure ausscheiden, viel reicher an Hypoxanthin sind, als die des Menschen und des Pferdes.

In folgender Tabelle sind die bisher von mir an Muskeln ausgeführten Untersuchungen zusammengestellt.

In 100 Theilen des feuchten Muskels:

Pferd	(Peripherer Muskel)	0,068	gr.	Hypoxanthin.
Mensch	«	0,048	«	«
Mensch	(Herz)	0,039	«	«
Huhn	(Brust)	0,073	«	«
Huhn	«	0,129	«	«
Taube	(Brust)	0,120	«	«
Taube	«	0,107	«	«

Im Vergleich mit diesen Zahlen ist es von Interesse, dass bei der Leukämie, in einem Zustande, wo die Menge der stickstoffreichen Basen im Blute<sup>2)</sup> so bedeutend vermehrt

<sup>1)</sup> Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. CIII, S. 249.

<sup>2)</sup> Siehe unten, S. 22.

ist, auch die Menge der ausgeschiedenen Harnsäure grösser ist als im normalen Zustand.

Ueber das Verhalten der stickstoffreichen Basen, d. h. des Guanins, Hypoxanthins, Xanthins bei wechselnden physiologischen Zuständen liegen bis jetzt nur wenige Beobachtungen vor. Versuche von Demant führten zu dem Resultat, dass bei gut genährten Tauben kein oder wenig Hypoxanthin und Xanthin in den Muskeln vorhanden sei, dass dagegen diese Körper beim Hungerzustand in etwas grösserer Quantität auftreten<sup>1)</sup>. Da die Bestimmungen Demant's in dem Wasserextrakt der Organe ausgeführt waren, so bedurften dieselben einer Wiederholung, nachdem ich gefunden hatte, dass die ganze Menge des Hypoxanthins erst durch Kochen der Organe mit verdünnten Säuren abgespalten wird.

Die folgenden Versuche wurden an sechs Tauben angestellt. Nach einer Periode guter Ernährung wurden drei der Thiere getödtet und in der Pectoralis-Muskulatur das Hypoxanthin bestimmt, die drei übrigen blieben am Leben. Das Gesamt-Gewicht der getödteten Thiere betrug 1055 gr., das der lebenden 1079 gr.. Letztere blieben sechs Tage ohne feste Nahrung und wurden dann ebenfalls getödtet. Das Gesamt-Körpergewicht war während dieser Zeit auf 967 gr. gesunken. Die Resultate dieser Versuche sind zugleich mit den Hypoxanthin- und Xanthin-Bestimmungen in den Muskeln der Hennen in folgender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle IV.

Species.	Gut genährt.		Hungernd.	
	Hypoxanthin	Xanthin <sup>2)</sup>	Hypoxanthin	Xanthin <sup>2)</sup>
Hennen .	0,129%	0,011%	0,073%	0,038%
Tauben .	0,120 «	0,117 «	0,107 «	0,089 «

Mit Berücksichtigung der oben erwähnten Stickstoffbestimmungen in den Muskeln der Hühner ergibt sich somit,

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. III, S. 381.

<sup>2)</sup> Nach dem Auskrystallisiren des Hypoxanthin-Silbernitrate wurde das Xanthinsilber mit Ammoniak ausgefällt. Aus dem Xanthinsilber wurde das Xanthin berechnet.



dass im gut genährten Thiere 1,3%, im hungernden Thier 0,99% des Gesamt-Stickstoffs in Form von Hypoxanthin und Xanthin enthalten war. Diese Versuche erweisen somit eine geringe Abnahme des gesammten Hypoxanthins und Xanthins während des Hungerzustandes. Es geht hieraus übrigens nicht etwa hervor, dass die Versuche Demants, die sich nur auf das freie Hypoxanthin bezogen, unrichtig sind. — Aehnliche Zahlen versuchte ich auch nach dem früher von mir angewandten Verfahren für die Leber der Hühner zu gewinnen. 73,00 gr. Leber der reichlich genährten Hühner gaben 0,6620 gr. Silber-Niederschlag. Derselbe enthielt 15,4% N (berechnet für Hypoxanthin-Silberoxyd 15,6% N, für Xanthin-Silberoxyd 14,6% N), es war also 3,17% des gesammten Stickstoffs der Leber in Form von Xanthin, Guanin, Hypoxanthin vorhanden<sup>1)</sup>.

Eine eigenthümliche Vermehrung des Guanins, Xanthins und Hypoxanthins in den Organen bei leukämischer Erkrankung wurde von Scherer aufgefunden und später von mehreren Autoren bestätigt. Bereits in früheren Publikationen habe ich die Ansicht ausgesprochen, dass diese Erscheinung durch die vermehrte Menge kernhaltiger Elemente zu erklären ist<sup>2)</sup>.

Durch die Güte des Herrn Professor von Recklinghausen wurde es mir möglich, leukämische Organe zu untersuchen. Die bisherigen quantitativen Bestimmungen des Hypoxanthins, Guanins, Xanthins konnten nach den von mir gemachten Erfahrungen nicht mehr massgebend sein, da sie nicht die Gesamtmenge dieser Basen angeben, sondern nur denjenigen Theil derselben, welcher in freiem Zustand in den Organen vorhanden, oder durch Zersetzung des Nucleins frei geworden war. Für den vorliegenden Fall war es von Inter-

<sup>1)</sup> Bei den Hungerthieren führte der Versuch nicht zu einem sicheren Resultat. 25,85 gr. Leber gaben 0,1750 gr. Silber-Niederschlag, der Stickstoffgehalt des Silber-Niederschlags betrug 22,9%, stimmte folglich nicht mit den berechneten Werthen überein. Es fehlt also hier die Garantie für die Reinheit der gefällten Silberverbindungen

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. V, S. 156, Untersuchungen über die Nucleine und ihre Spaltungsprodukte, S. 18.

esse, die leukämischen Organe in Bezug auf den Hypoxanthin-Gehalt mit den gesunden Organen zu vergleichen.

Die folgenden Zahlen sind nach dem früher<sup>1)</sup> von mir beschriebenen Verfahren gewonnen, die oben angeführten Einschränkungen<sup>2)</sup> gelten auch für diese.

Tabelle V.

Leukämisches Organ.	Zur Analyse benutzte Menge desselben.	Gefundene Menge des Hypoxanthin-silbernitrats.	Procentgehalt an Hypoxanthin.	
			im leukämischen Organ.	im normalen Organ.
Leber . . . .	299 gr.	0,5930	0,088	0,082 <sup>3)</sup>
Blut . . . .	300 Cc.	0,7020	0,104	Spuren <sup>4)</sup> .
Milz. . . . .	209 gr.	0,5460	0,116	0,096 <sup>4)</sup>

Diese Tabelle zeigt, dass die leukämische Leber und Milz in Bezug auf den Hypoxanthin-Gehalt nicht wesentlich von den betreffenden normalen Organen abweicht, wohl aber das Blut.

Diese Zahlen sind leicht erklärlich. Wenn man die Substanz des Zellkerns als Muttersubstanz des Hypoxanthins, Guanins und Xanthins betrachtet, so muss man eine bedeutende Veränderung des procentischen Hypoxanthin-Gehaltes erwarten in denjenigen Organen, wo kernhaltige Elemente (weisse Blutkörperchen) an die Stelle kernloser Gebilde (rother Blutkörperchen) treten, geringe oder gar keine Differenzen da, wo in Folge der leukämischen Erkrankung kernhaltige Zellen des normalen Organs durch kernhaltige Zellen pathologischen Ursprungs ersetzt werden. Dass der Nuclein-gehalt des leukämischen Blutes bedeutend grösser ist, als der des normalen, geht aus der Analyse in Tabelle I hervor. Diese Zahlen bestätigen also die früher ausgesprochene Ansicht vollkommen; es ist durch meine Untersuchungen die eigenthümliche Vermehrung des Guanins, Hypoxanthins und Xanthins im leukämischen Blut erklärt, d. h. als eine nothwendige Folge der morphologischen Veränderungen hingestellt.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. V. S. 267.

<sup>2)</sup> Oben S. 11.

<sup>3)</sup> Vom Hund.

<sup>4)</sup> Vom Menschen.