

Zur Kenntniss des Vorkommens von Allantoin, Asparagin, Hypoxanthin und Guanin in den Pflanzen.

Von

E. Schulze und E. Bosshard.¹⁾

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)
(Der Redaction zugegangen am 7. März 1885.)

Während der letzten Jahre haben wir Beobachtungen gesammelt, welche sich auf das Auftreten der in der Ueberschrift genannten Stickstoffverbindungen im Pflanzenorganismus beziehen; die Ergebnisse derselben theilen wir im Folgenden mit, in der Hoffnung, dass sie sich als nicht bedeutungslos für die Erkenntniss des Stoffwechsels der Pflanzen erweisen werden.

Im Laufe seiner interessanten Forschungen über die Verbreitung des Asparagins in den Pflanzen und über die physiologische Rolle desselben hat J. Borodin²⁾ mittelst mikrochemischer Reaktionen u. a. nachgewiesen, dass bei vielen Holzgewächsen die jungen Triebe besonders dann sehr reich an Asparagin werden, wenn sie sich an Zweigen entwickeln, welche man vom Stamme abgetrennt und mit dem untern Ende in Wasser gestellt hat. Der Wunsch, zu prüfen, ob in solchem Falle neben Asparagin andere Amide auftreten, veranlasste den Einen von uns, unter Mitwirkung von J. Barbieri eine Untersuchung auszuführen, welche früher schon zur Publikation gelangte.³⁾ Dieselbe hatte ein uner-

¹⁾ Referat von E. Schulze.

²⁾ Botanische Zeitung, 1878, S. 802.

³⁾ Journal für praktische Chemie, N. F., Bd. 25, S. 145, und Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft, Bd. 13, S. 1602.

wartetes Resultat; in jungen, in der beschriebenen Weise zur Entwicklung gebrachten Sprossen der Platane (*platanus orientalis*) fand sich ein Stoff vor, dessen Identität mit Allantoin durch chemische und durch krystallographische Untersuchung festgestellt werden konnte.¹⁾ In vier aufeinanderfolgenden Jahren wurden solche Platanensprossen auf Allantoin untersucht, und dasselbe wurde stets darin vorgefunden. Seine Menge war wechselnd; sie stieg bis auf ca. 1% der Trockensubstanz der Sprossen. Neben Allantoin fand sich stets Asparagin in beträchtlicher Menge vor.

Auch junge, unter normalen Verhältnissen am Baum zur Entwicklung gelangte Platanenblätter enthielten Allantoin, wie schon in der frühern Abhandlung²⁾ mitgetheilt worden ist. Die Menge desselben war jedoch sehr gering und in einem Falle wurde bei Verarbeitung solcher Blätter gar kein Allantoin erhalten. Das letztere Resultat ist aber vielleicht durch die Unvollkommenheit der Untersuchungsmethode bedingt worden. Die Blätter wurden nämlich getrocknet, dann mit heissem Wasser extrahirt, der Extrakt durch Behandlung mit Bleiessig gereinigt, hierauf mittelst Schwefelwasserstoff vom gelösten Blei befreit und auf ein geringes Volumen eingedunstet, um Allantoin zum Auskrystallisiren zu bringen. Da nun bei solcher Behandlung syrupartige Flüssigkeiten resultirten, so ist es möglich, dass eine darin enthaltene geringe Allantoinmenge durch die anderen in grösserer Quantität vorhandenen Stoffe am Auskrystallisiren verhindert wurde. Später haben wir einen Extrakt aus jungen am Baum gewachsenen Platanenblättern noch einmal nach der weiter unten beschriebenen bessern Methode³⁾ auf Allantoin geprüft und dasselbe auch nachweisen können. Aus 440 gr. frischen jungen Blättern erhielten wir ungefähr 0,25 [gr. Allantoin. Asparagin schien nicht vorhanden zu sein.

1) Die krystallographische Untersuchung verdanken wir der Güte des Herrn Prof P. Groth.

2) S. 156.

3) Nach welcher das Allantoin durch Ausfällung mittelst salpetersauren Quecksilberoxyds u. s. w. gewonnen wird.

Es war von Interesse, zu prüfen, ob das Vorkommen von Allantoin im Pflanzenorganismus ein vereinzelt, etwa nur auf die Platanen beschränktes sei, oder ob auch andere Pflanzen diesen Stoff enthalten. Wir haben daher zunächst noch mit einer Anzahl von Holzgewächsen Versuche angestellt. Die mit Knospen besetzten Zweige wurden im Frühjahr (kurz vor dem Zeitpunkt, in welchem die Knospen aufzubrechen begannen) von den Bäumen abgeschnitten, mit dem untern Ende in Wasser gestellt und so bei Zimmertemperatur belassen, bis die jungen Sprossen kein merkliches Wachstum mehr zeigten; dann wurden die letzteren von den Zweigen abgetrennt.

Ueber die Art und Weise, in welcher wir diese Sprossen untersuchten, ist Folgendes zu bemerken: Anfangs trockneten wir dieselben bei einer Temperatur von 50–60°, zerkleinerten sie sodann und extrahirten sie mit heissem Wasser (in einigen Fällen mit heissem, stark verdünntem Alkohol). Die Extrakte versetzten wir mit Bleiessig, so lange ein Niederschlag entstand; dann filtrirten wir, entfernten aus dem Filtrat das gelöste Blei durch Schwefelwasserstoff, dunsteten die vom Schwefelblei abgelaufene Flüssigkeit im Wasserbade auf ein geringes Volumen ein und liessen sie dann über Schwefelsäure stehen, bis sich Krystalle ausschieden. Später fanden wir es zweckmässiger, das folgende Verfahren anzuwenden: Die Sprossen wurden in frischem Zustande zerkleinert, dann mit heissem Wasser extrahirt, die Extrakte mit Bleiessig versetzt, so lange noch ein Niederschlag entstand; den von den Bleiniederschlägen abfiltrirten Flüssigkeiten fügten wir sodann eine wässrige Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd¹⁾ in schwachem Ueberschuss zu. Die durch dieses Reagens hervorgebrachten weissen Niederschläge wurden, nachdem sie abfiltrirt und mit kaltem Wasser ausgewaschen

1) Die für obigen Zweck verwendete Lösung erhielten wir, indem wir ein krystallinisches Präparat von salpetersaurem Quecksilberoxyd (bezogen von H. Trommsdorff in Erfurt) mit kaltem Wasser behandelten und das ungelöst bleibende basische Salz durch Filtration entfernten.

worden waren, in Wasser aufgerührt und durch Schwefelwasserstoff zersetzt. Die vom Schwefelquecksilber abfiltrirten Flüssigkeiten neutralisirten wir mit Ammoniak und dunsteten sie im Wasserbade bei gelinder Wärme auf ein geringes Volumen ein. Nach einiger Zeit lieferten alle diese Flüssigkeiten Krystallisationen, welche stets der Hauptsache nach aus Asparagin bestanden.

Es war nun unsere Aufgabe, diese Krystallisationen auf Allantoin zu prüfen. Anfangs glaubten wir für diesen Zweck die Fällbarkeit des letzteren Stoffes durch Silbernitrat und Ammoniak verwerthen zu können. Es zeigte sich jedoch, dass in einer Lösung, welche neben Allantoin sehr viel Asparagin enthält, durch Zusatz von Silbernitrat und darauf folgendes Zutropfen von Ammoniakflüssigkeit kein Niederschlag hervorgebracht wird (erst nach längerer Zeit scheidet sich meist eine geringe Menge eines solchen aus). Die Gegenwart des Asparagins hindert also bis zu gewissem Grade die Ausfällung des Allantoins und es ist somit nicht möglich, auf dem angegebenen Wege letzteren Körper vom Asparagin zu trennen, falls dieses in sehr grosser Menge vorhanden ist.

Der Nachweis beider Körper neben einander und ihre Trennung gelingt jedoch auf anderem Wege ohne Schwierigkeit. Wenn man ihre wässrige Lösung in der Hitze mit Kupferoxydhydrat sättigt und dann erkalten lässt, so scheidet sich das Asparagin grösstentheils in Form seiner sehr schwer löslichen Kupferverbindung aus (durch Einengen der Flüssigkeit kann man eine noch vollständigere Ausscheidung dieser Verbindung erzielen). Man bringt das Asparaginkupfer auf ein Filter, wäscht mit heissem Wasser aus, befreit das Filtrat durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom gelösten Kupfer und dunstet es sodann auf ein geringes Volumen ein. Ist Allantoin vorhanden, so krystallisirt es aus,¹⁾ während die

¹⁾ Ueber das Verhalten des Allantoins zum Kupferoxydhydrat ist Folgendes zu bemerken: Nach den Angaben in Gmelin's Handbuch der Chemie, Suppl., S. 936, soll Allantoin beim Kochen mit Kupferoxydhydrat und Wasser eine blaue Lösung geben, aus welcher grüne Krystalle (eine Verbindung von 6 Mol. Allantoin und 1 Mol. CuO)

noch in der Flüssigkeit befindliche geringe Asparaginnmenge in Lösung bleibt. Sollte aber etwa ein Gemenge von Allantoin und Asparagin auskrystallisiren, so ist es nicht schwierig, das letztere, da es leichter löslich ist als Allantoin, durch Umkrystallisiren zu beseitigen.

Ob eine Krystallisation aus Allantoin oder aus Asparagin besteht, ist leicht festzustellen, da die Formen, in denen die beiden Körper krystallisiren, so verschieden sind, dass man sie in der Regel schon mit unbewaffnetem Auge unterscheiden kann — da ferner die Asparaginkrystalle beim Erhitzen auf 100° unter Verlust des Krystallwassers weiss und undurchsichtig werden, während die wasserfreien Allantoin-Krystalle sich bei 100° nicht verändern. Auch ist leicht zu ermitteln, ob ein Allantoin-Präparat frei von Asparagin ist oder nicht. In ersterem Falle wird es bei 100° nicht an Gewicht abnehmen, wenn man es zuvor an der Luft oder über Schwefelsäure getrocknet hat.

Bei der Identifizirung des Allantoins kann man sich auf folgende Merkmale stützen: Das Allantoin krystallisirt in kleinen glänzenden Prismen, welche sich sehr schwer in kaltem, leichter in kochendem Wasser lösen. Die mit Silbernitrat vermischte wässerige Lösung gibt beim Zutropfen von Ammoniakflüssigkeit einen weissen, rasch zu Boden sinkenden Niederschlag. Durch salpetersaures Quecksilberoxyd wird die wässerige Lösung noch bei starker Verdünnung gefällt. Erhitzt man Allantoin mit Kalilauge, so entwickelt sich Ammoniak: die mit Essigsäure übersättigte Zersetzungsflüssigkeit gibt auf Zusatz von Chlorcalcium einen weissen Niederschlag von

sich ausscheiden. Wir erhielten jedoch beim Erhitzen einer Allantoin-Lösung mit viel Kupferoxydhydrat eine nur ganz schwach gefärbte Flüssigkeit, aus welcher nach dem Filtriren und Eindampfen das Allantoin sich anscheinend unverändert wieder ausschied. Dem Kupferoxydhydrat schien jedoch eine geringe Menge einer unlöslichen Allantoin-Verbindung beigemischt zu haben; denn dasselbe entwickelte (nach dem Auswaschen und Trocknen) beim Glühen mit Natronkalk Ammoniak. Es ist demnach möglich, dass man bei dem von uns angewendeten Trennungsv erfahren etwas Allantoin verliert.

Calciumoxalat. Das Asparagin andererseits kann man, auch ohne Ausführung analytischer Bestimmungen und ohne Krystallmessungen, an folgenden Eigenschaften erkennen: Es krystallisirt in durchsichtigen Krystallen, welche bei langsamer Ausbildung eine bedeutende Grösse erreichen; sie enthalten Krystallwasser (12%), welches bei 100° entweicht, und zeigen im polarisirten Licht ein schönes Farbenspiel. Sättigt man die wässerige Lösung in der Hitze mit Kupferoxydhydrat, so erhält man eine lasurblaue Flüssigkeit; beim Erkalten scheidet sich aus derselben eine feinkrystallinische Kupferverbindung aus, welche (wenigstens in reinem Zustande) schön blau mit einem Stich in's Violette ist. Beim Erhitzen mit verdünnter Kalilauge entwickelt das Asparagin lebhaft Ammoniak. Erhitzt man es mit sehr verdünnter Salzsäure, so entsteht in der Flüssigkeit ein Ammoniaksalz (am leichtesten nachzuweisen, indem man die Flüssigkeit nach dem Erkalten neutralisirt und sodann Nessler'sches Reagens zufügt). Will man bei der Identifizirung des Asparagins zur grössern Sicherheit noch eine analytische Bestimmung zu Hülfe nehmen, so empfiehlt sich für diesen Zweck die leicht auszuführende Bestimmung des Krystallwasser-Gehalts.

Nach dem angegebenen Verfahren haben wir ausser in den Platanensprossen noch in den jungen, in der früher beschriebenen Weise zur Entwicklung gebrachten Sprossen von *Acer pseudoplatanus* und *Acer campestre* Allantoin neben Asparagin nachweisen können. Die für Allantoin zu erklärenden Krystalle stimmten im Aussehen mit Allantoin überein und zeigten das oben angegebene Verhalten des letztern. In dem aus *Acer pseudoplatanus* abgetrennten Präparat wurde auch der Stickstoffgehalt nach Kjeldahl's Methode bestimmt,¹⁾ mit folgendem Resultat:

0,2134 gr. Substanz gaben 0,07503 gr. N in Ammoniakform.

Berechnet für $C^4H^6N^4O^3$		Gefunden
N	35,44%	35,16%

1) Für ein Allantoin-Präparat unserer Sammlung wurde in einer zur Controle ausgeführten Bestimmung nach der gleichen Methode ein Stickstoffgehalt von 35,33% gefunden.

Ueber die Quantität, in welcher das Allantoin erhalten wurde, ist Folgendes zu bemerken:

- 1 Kilogr. der frischen Sprossen von *Acer pseudoplatanus* (= 170 gr. Trockensubstanz) gab ungefähr 0,5 gr. Allantoin, daneben 5 gr. Asparagin.

Wir haben die jungen Sprossen der beiden *Acer*-Arten in zwei auf einander folgenden Jahren für die Untersuchung verwendet. Bei *Acer pseudoplatanus* fanden wir in beiden Jahren Allantoin vor, bei *Acer campestre* war im ersten Jahre das Resultat ein unsicheres;¹⁾ im zweiten Jahre erhielten wir aber auch aus diesem eine Substanz, welche alle oben angegebenen Merkmale des Allantoins zeigte.

Ein negatives Resultat lieferte die Prüfung auf Allantoin bei den jungen in der beschriebenen Weise zur Entwicklung gebrachten Sprossen von *Betula alba*, *Fagus sylvatica*, *Tilia parvifolia*, *Populus nigra* und *Vitis vinifera* (wenn etwa auch hier Allantoin vorhanden war, so kann dasselbe doch jedenfalls nur in höchst geringer Menge sich vorgefunden haben). Alle diese Objekte enthielten Asparagin. Dasselbe wurde stets in gut ausgebildeten Krystallen erhalten, welche die früher angegebenen Eigenschaften zeigten. In vier Präparaten wurde der Krystallwassergehalt bestimmt, mit folgendem Resultat:

1. Asparagin aus *Acer pseudoplatanus*: 0,3116 gr. Substanz verloren bei 100° 0,0378 gr. an Gewicht.
2. Asparagin aus *Acer campestre*: 0,4322 gr. Substanz verloren bei 100° 0,0518 gr. an Gewicht.
3. Asparagin aus *Fagus sylvatica*: 6,4628 gr. Substanz verloren bei 100° 0,0564 gr. an Gewicht.
4. Asparagin aus *Populus nigra*: 0,2980 gr. Substanz verloren bei 100° 0,0362 gr. an Gewicht.

¹⁾ Aus den im ersten Jahre untersuchten Sprossen von *Acer campestre* erhielten wir in geringer Menge einen Stoff, welcher zwar im Uebrigen dem Allantoin gleich, bei dessen Zersetzung wir aber keine Oxalsäure zu erhalten vermochten. Vielleicht misslang der Versuch, weil wir nur eine sehr geringe Substanzmenge für denselben verwenden konnten. Wir haben dieses Resultat, sowie das bei *Acer pseudoplatanus* erhaltene, schon kurz mitgetheilt in einer Abhandlung in den «Landwirthschaftlichen Jahrbüchern», herausgegeben von H. Thiel, XII. S. 919.

	Berechnet für $C^4H^8N^2O^3 + H^2O$	Gefunden			
		1.	2.	3.	4.
H_2O	12,00%	12,13%	11,98%	12,10%	12,14%

Zur Entdeckung eines weitem Vorkommens von Allantoin im Pflanzenorganismus führten Versuche, welche Aufschluss über die Formen geben sollten, in denen in den Stammtheilen der Holzgewächse zur Zeit der Winterruhe der Stickstoff sich vorfindet. Wir untersuchten dabei zunächst die Rindenschicht. Dieselbe wurde von den gegen Ende Oktober oder Anfang November von den Bäumen abgetrennten Zweigen ¹⁾ abgetrennt, dann zerkleinert und mit heissem Wasser extrahirt. Die Extrakte versetzten wir, nachdem sie von den durch Bleiessig fällbaren Substanzen befreit worden waren, mit salpetersaurem Quecksilberoxyd. Die so erhaltenen, dem Volumen nach nicht bedeutenden Niederschläge zersetzten wir durch Schwefelwasserstoff und dunsteten die vom Schwefelquecksilber abfiltrirten Flüssigkeiten, nachdem sie mit Ammoniak neutralisirt worden waren, im Wasserbade auf ein geringes Volumen ein. In zwei Fällen erhielten wir Allantoin, nämlich bei Verarbeitung von Rinden von *Aesculus hippocastanum* und von *Acer pseudoplatanus*.

Ueber die Einzelheiten der Versuche ist noch Folgendes zu berichten: Die Rinde von *Aesculus hippocastanum* lieferte wegen ihres Aesculin-Gehalts einen fluorescirenden Extrakt. Die Flüssigkeit, welche bei Verarbeitung des in diesem Extrakt durch salpetersaures Quecksilberoxyd hervorgebrachten Niederschlags erhalten wurde, färbte sich während des Eindunstens ziemlich dunkel. Sie lieferte eine krystallinische Ausscheidung, welche aus zwei verschiedenen Substanzen bestand. Die eine beim Umkrystallisiren sich zuerst wieder ausscheidende Substanz erwies sich als Allantoin. Sie zeigte das für diesen Körper oben angegebene Verhalten, stimmte aber auch in der Krystallform mit demselben vollständig überein — nach einer Untersuchung, welche wir der Güte des Herrn Professor

¹⁾ Es wurden hauptsächlich Zweige von mittlerer Stärke für die Versuche verwendet.

P. Groth verdanken; der Genannte theilte uns über die Resultate dieser unter seiner Leitung von Herrn Dr. Vater ausgeführten Untersuchung Folgendes mit:

«Die übersendete Substanz erwies sich als vollkommen identisch mit den früher gemessenen Präparaten unzweifelhaften Allantoins (man vergl. Zeitschrift für Krystallographie, Bd. 8, Seite 505). Es waren zwar keine messbaren Endflächen vorhanden, aber die vorherrschende Form c (001), a (100), d (101) war messbar entwickelt und die Lage der optischen Axen konnte mit aller Sicherheit constatirt werden.»

Die zweite, nach dem Allantoin auskrystallisirende, Substanz ¹⁾ erwies sich als Aesculin. Sie zeigte in alkalischer Lösung schön blaue Fluorescenz; die Auflösung in Salpetersäure gab auf Zusatz von Ammoniak die für Aesculin charakteristische Rothfärbung. Die wässerige Lösung der durch Umkrystallisiren gewonnenen Substanz gab mit salpetersaurem Quecksilberoxyd keinen Niederschlag mehr (was auch für Aesculin anderer Herkunft gilt); es ist daher nicht recht ersichtlich, warum das Aesculin in den Quecksilberniederschlag eingegangen war.

Das aus der Rinde von *Acer pseudoplatanus* gewonnene Allantoin zeigte die für diesen Körper oben als charakteristisch angegebenen Merkmale. Eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl's Methode gab folgendes Resultat:

0,2038 gr. Substanz gaben 0,072391 gr. N in Ammoniakform.

Berechnet		Gefunden
für $C^4H^6N^4O^3$		
N	35,44 %	35,52 %

Aus einem Kilogramm der frischen Rinde von *Acer pseudoplatanus* wurde ungefähr ein halbes Gramm Allantoin erhalten.

Im Hinblick auf die im Vorigen mitgetheilten Ergebnisse erwarteten wir auch in der Rinde von Platanenzweigen

¹⁾ Natürlich war derselben Anfangs noch etwas Allantoin beigemengt.

Allantoin zu finden. Der Niederschlag, welcher in einem Extrakt aus solcher Rinde durch salpetersaures Quecksilberoxyd hervorgebracht wurde, lieferte aber nur Krystalle, welche sich bei der näheren Untersuchung als Asparagin erwiesen.

In den Extrakten, welche aus den Rinden der Zweige von Eichen, Eschen und Linden dargestellt wurden, vermochten wir weder Allantoin noch Asparagin nachzuweisen. Die Flüssigkeiten, welche bei Verarbeitung der in diesen Extrakten durch salpetersaures Quecksilberoxyd hervorgebrachten (dem Volumen nach nicht bedeutenden) Niederschläge erhalten wurden, färbten sich während des Eindampfens sehr dunkel und lieferten auch bei längerem Stehen keine Krystalle von Allantoin oder Asparagin.

In vier verschiedenen Holzgewächsen konnte also Allantoin nachgewiesen werden. Wenn man nach dem Ursprung desselben fragt, so lässt sich darauf eine bestimmte Antwort zur Zeit nicht geben. Für die Annahme, dass die Allantoin-Bildung mit dem Zerfall von Eiweissstoffen in Zusammenhang steht,¹⁾ könnte der Umstand sprechen, dass in den jungen Sprossen der Holzgewächse neben Allantoin das Asparagin auftritt, welches mit Sicherheit als Eiweisszersetzungsprodukt anzusehen ist, und dass mit der Anhäufung des letztern (bedingt durch die Art und Weise, in welcher wir die Sprossen sich entwickeln liessen) allem Anschein nach auch das Allantoin sich anhäuft (wenigstens für die Platanensprossen dürfte letzteres als erwiesen anzusehen sein). Der obigen Annahme scheint vielleicht der Umstand entgegenzustehen, dass nicht in allen in der beschriebenen Weise zur Entwicklung gebrachten Sprossen von Holzgewächsen Allan-

1) Da Allantoin aus Harnsäure dargestellt werden kann, da man ferner eine chemische Verwandtschaft zwischen der Harnsäure einerseits und dem Hypoxanthin und Xanthin andererseits wenigstens vermuthet, so könnte man auch fragen, ob nicht vielleicht die Bildung von Allantoin zum Auftreten von Hypoxanthin und Xanthin in den Pflanzen in Beziehung stände.

toin neben Asparagin nachzuweisen war. Es ist jedoch denkbar, dass in solchen Sprossen stets Allantoin entsteht, aber nur in einzelnen Fällen sich anhäuft, meistens nach der Bildung wieder umgewandelt wird. Etwas Aehnliches scheint ja für gewisse mit ziemlich grosser Sicherheit als Produkte der Eiweisszersetzung anzusehende Substanzen zu gelten; wir erinnern daran, dass z. B. nur in den Keimlingen des Kürbis das Tyrosin bis jetzt in etwas grösserer Menge aufgefunden worden ist, während die Keimlinge anderer Gewächse nur minimale Quantitäten davon zu enthalten scheinen. Dass in den letzteren Keimlingen beim Eiweisszerfall gar kein Tyrosin entsteht, ist kaum anzunehmen; viel wahrscheinlicher ist es, dass das Anfangs gebildete Tyrosin rasch wieder umgewandelt wird und daher bis auf einen sehr geringen Rest verschwindet. Etwas Aehnliches könnte für das Allantoin gelten. Besässe man ein Reagens, mittelst dessen man Spuren von Allantoin in Flüssigkeiten nachweisen könnte, so würde man diesen Stoff vielleicht in den Extrakten aus den jungen Sprossen der Holzgewächse stets nachzuweisen vermögen. Dass aber auf dem von uns eingeschlagenen Wege das Allantoin nicht in Substanz zur Abscheidung gebracht werden kann, wenn es nur in sehr geringer Menge sich vorfindet, ist wohl sehr wahrscheinlich.

Im Hinblick auf die im Vorigen aufgeworfene Frage erschien es angezeigt, zu prüfen, ob nicht in Keimpflanzen Allantoin neben Asparagin aufzufinden ist. Ausserordentlich reich an Eiweisszersetzungsprodukten, insbesondere an Asparagin, sind bekanntlich die etiolirten Lupinenkeimlinge. Dass in solchen Keimlingen Allantoin nicht in grösserer Menge vorhanden sein kann, lehrten schon die Untersuchungen, welche der Eine von uns in Verbindung mit mehreren Mitarbeitern früher ausgeführt hat. In den zahlreichen Versuchen, die in den genannten Keimlingen vorhandenen Stoffe durch Krystallisation aus den Extrakten zu gewinnen, wurden niemals Krystalle erhalten, welche die Eigenschaften des Allantoins zeigten, und die aus jenen Extrakten gewonnenen Krystallisationen von Asparagin, denen das schwer lösliche

Allantoin hätte beigemischt sein können, gaben bei der Analyse (Stickstoff- und Wasser-Bestimmung) Zahlen, welche auf die Zusammensetzung des reinen Asparagins passten. Trotz dieser Ergebnisse war es aber doch denkbar, dass in den Lupinenkeimlingen sehr geringe Allantoinmengen neben Asparagin sich vorfanden. Wir haben daher noch einige Versuche in der Weise ausgeführt, dass wir die aus etiolirten Lupinenkeimlingen dargestellten wässerigen Extrakte zuerst mit Bleiessig, dann (nach der Filtration) mit salpetersaurem Quecksilberoxyd versetzten und die durch das letztere Reagens hervorgebrachten Niederschläge in der früher beschriebenen Weise verarbeiteten. Bei Ausführung dieser Versuche zerlegten wir die etiolirten Keimlinge in drei Theile; wir trennten die Cotyledonen von den Axenorganen (Wurzel und hypokotyles Glied) und von dem verkümmerten ersten Blättchenpaar, welches an solchen Keimlingen sich entwickelt. Jeder dieser Theile wurde für sich extrahirt und der Extrakt in der beschriebenen Weise behandelt. Die bei Verarbeitung der Quecksilberniederschläge resultirenden Flüssigkeiten lieferten in allen Fällen beträchtliche Asparagin-Krystallisationen. Wir prüften dieselben auf eine Beimengung von Allantoin, aber mit negativem Resultat. Als das Asparagin in Form der Kupferverbindung zum grössten Theil zur Ausscheidung gebracht, die restirende Flüssigkeit mittelst Schwefelwasserstoff vom gelösten Kupfer befreit und dann auf ein geringes Volumen verdunstet wurde, krystallisirte noch etwas Asparagin aus.¹⁾ Krystalle vom Aussehen und Verhalten des Allantoins haben wir niemals erhalten.

Auch bei Verarbeitung der Quecksilberniederschläge, welche in wässerigen Extrakten aus Kürbiskeimlingen durch salpetersaures Quecksilberoxyd hervorgebracht wurden,

1) Die bei Verarbeitung der Cotyledonen in der beschriebenen Weise erhaltene Flüssigkeit lieferte neben Asparagin in geringer Menge eine im Aussehen fast dem Glutamin gleichende Substanz. Ueber die Natur derselben vermögen wir zur Zeit noch keine näheren Angaben zu machen.

haben wir bis jetzt kein Allantoin erhalten können. Dass trotz dieses negativen Resultates in den Keimpflanzen neben Asparagin, Glutamin u. s. w. sehr geringe Allantoin-Mengen vorhanden sein können, ist zuzugeben.

In Bezug auf die Bildung von Asparagin im Pflanzenorganismus machten wir im Frühling des vorigen Jahres eine nicht uninteressante Beobachtung. Um Aufschluss über die nicht eiweissartigen Stickstoffverbindungen zu gewinnen, welche in Futtergewächsen enthalten sind, wurden die oberirdischen Theile junger, frisch vom Felde genommener Gras-, Hafer- und Rothklee-Pflanzen¹⁾ zerkleinert und mit heissem Wasser extrahirt, die Extrakte zur Reinigung mit Bleiessig behandelt, dann mit salpetersaurem Quecksilberoxyd versetzt. Die durch letzteres Reagens hervorgebrachten, der Quantität nach nicht bedeutenden Niederschläge verarbeiteten wir dann eben so, wie es früher beschrieben worden ist. Aus den dabei resultirenden Flüssigkeiten krystallisirte nur in einem Falle, nämlich bei Verarbeitung von jungem Rothklee, Asparagin aus, und die Quantität desselben war nur eine sehr geringe (1 kg. frische Pflanzen lieferte nur ungefähr 0,25 gr. davon); aus Hafer und aus Gras wurde kein Asparagin erhalten.

Ganz anders war das Resultat, als wir Pflanzen der gleichen Art untersuchten, nachdem dieselben, mit den abgeschnittenen Stengeln in Wasser gesteckt, etwa eine Woche lang in einem dunkeln Zimmer vegetirt hatten. Die daraus dargestellten wässerigen Extrakte gaben nur (nach Beseitigung der durch Bleiessig fällbaren Substanzen) sehr starke Niederschläge mit salpetersaurem Quecksilberoxyd und bei Verarbeitung dieser Niederschläge wurden in allen Fällen beträchtliche Krystallisationen von Asparagin erhalten. Besonders gross war die in der beschriebenen Weise aus dem Hafer darstellbare Asparagin-Quantität; 900 gr. frische Pflanzen

¹⁾ Diese oberirdischen Theile hatten beim Hafer eine Länge von ca. 40 Centimeter, beim Rothklee eine solche von 20—30 Centimeter.

(welche wohl kaum mehr als 160—170 gr. Trockensubstanz enthielten) lieferten 3,1 gr. Asparagin. Dass bei der zur Anwendung gekommenen Gewinnungsmethode Verluste nicht zu vermeiden sind, liegt auf der Hand;¹⁾ die im Ganzen vorhandene Asparagin-Quantität war also ohne Zweifel noch grösser, als die zur Abscheidung gebrachte Menge. Geringer war die aus dem in der beschriebenen Weise behandelten Rothklee gewinnbare Asparagin-Menge; 800 gr. frische Pflanzen lieferten ungefähr 1,7 gr. Asparagin. Die aus dem Gras darstellbare Asparagin-Quantität ist nicht näher bestimmt worden. Allantoin vermochten wir in diesen Fällen nicht neben dem Asparagin aufzufinden.

Dass in den jungen Pflanzen unter den angegebenen Versuchsbedingungen Eiweiss zerfallen und Asparagin sich bilden würde, war nach den von Borodin²⁾ gemachten Beobachtungen zu erwarten. Unerwartet aber war es uns, dass die Asparaginbildung binnen weniger Tage in so starkem Masse erfolgte. Um den mit diesen Vorgängen verknüpften Verlust an Eiweissstoffen annähernd quantitativ festzustellen, haben wir sowohl in den direkt dem Felde entnommenen, wie in den ca. eine Woche lang in Wasser cultivirten Pflanzen, die auf Proteinstoffe fallende Stickstoffmenge nach der von Stutzer³⁾ vorgeschlagenen Methode bestimmt und gleichzeitig auch Bestimmungen des Gesamt-

1) Die Ausfällung des Asparagins ist nur dann eine vollständige, wenn man nach dem Zusatz des salpetersauren Quecksilberoxyds zur Asparaginlösung die Acidität der Flüssigkeit durch Hinzufügen von etwas Natronlauge oder Sodalösung abstumpft (was im vorliegenden Falle nicht geschehen ist); ferner kann während der Verarbeitung der Quecksilberniederschläge ein Theil des Asparagins sich zersetzen. Uebrigens haben wir in den obigen Versuchen das Asparagin auch nicht bis auf den letzten Rest zum Auskrystallisiren zu bringen versucht; die Mutterlaugen, welche ohne Zweifel noch etwas Asparagin enthielten, wurden auf Xanthin-Körper verarbeitet.

2) A. o. a. O.

3) Journal für Landwirthschaft, Bd. 28, S. 103. Bei Ausführung dieser Methode werden die Extrakte durch Erhitzen mit Kupferoxydhydrat von den Eiweissstoffen befreit.

stickstoffs ausgeführt. Wir erhielten folgende, auf die Trockensubstanz der Pflanzen berechnete Resultate:¹⁾

A. Junger Rothklee :

	a) Unmittelbar nach der Entnahme vom Felde getrocknet :	b) 8 Tage in Wasser cultivirt, dann getrocknet :
Gesamtstickstoff	4,11 %	4,37 %
Stickstoff in Form von Protein- stoffen.	3,22 »	2,47 »
Differenz (Stickstoff in Form von Amiden etc.).	0,89 »	1,90 »

¹⁾ Analytische Belege. Die Substanzen wurden in lufttrocknem Zustand abgewogen, die Zahlen auf Trockensubstanz umgerechnet.

A. Junger Rothklee:

a) unmittelbar nach der Entnahme vom Felde getrocknet :

Gesamt-Stickstoff:

0,93869 gr. Trockensubstanz gaben 0,0377512 gr. N in Ammoniakform
(= 9,6 cc. Barytlauge).

0,67122 gr. Trockensubstanz gaben 0,0282384 gr. N in Ammoniakform
(= 7,2 cc. Barytlauge).

Stickstoff in Form von Proteinstoffen:

0,89160 gr. Trockensubstanz gaben 0,02863 gr. N in Ammoniakform
(= 7,3 cc. Barytlauge).

0,89779 gr. Trockensubstanz gaben 0,0290228 gr. N in Ammoniakform
(= 7,4 cc. Barytlauge).

b) 8 Tage in Wasser cultivirt, dann getrocknet :

Gesamt-Stickstoff:

0,90087 gr. Trockensubstanz gaben 0,0394161 gr. N in Ammoniakform
(= 10,05 cc. Barytlauge).

0,87769 gr. Trockensubstanz gaben 0,038435 gr. N in Ammoniakform
(= 9,8 cc. Barytlauge).

Stickstoff in Form von Proteinstoffen:

0,88005 gr. Trockensubstanz gaben 0,0219632 gr. N in Ammoniakform
(= 5,6 cc. Barytlauge).

0,87742 gr. Trockensubstanz gaben 0,0213749 gr. N in Ammoniakform
(= 5,45 cc. Barytlauge).

B. Junger Hafer :

a) unmittelbar nach der Entnahme vom Felde getrocknet :

Gesamt-Stickstoff:

0,76627 gr. Trockensubstanz gaben 0,03216 gr. N in Ammoniakform
(= 8,2 cc. Barytlauge).

0,81924 gr. Trockensubstanz gaben 0,0329448 gr. N in Ammoniakform
(= 8,4 cc. Barytlauge).

0,85049 gr. Trockensubstanz gaben 0,0354941 gr. N in Ammoniakform
(= 9,05 cc. Barytlauge).

Die in Form von Amiden und anderen nicht proteinartigen Verbindungen vorhandene Stickstoffmenge war also, während der Klee in Wasser cultivirt wurde, fast auf 2% (auf mehr als das Doppelte der ursprünglichen Quantität) gestiegen. Noch bedeutender war die Steigerung bei den Haferpflanzen, wie die folgenden Zahlen beweisen:

B. Junger Hafer:

	a) Unmittelbar nach der Entnahme vom Felde getrocknet:	b) 6—7 Tage in Wasser cultivirt, dann getrocknet:
Gesamtsstickstoff	4,12%	4,50%
Stickstoff in Form von Protein- stoffen.	3,51 »	1,46 »
Differenz (Stickstoff in Form von Amiden etc.).	0,61 »	3,04 »

In den 6—7 Tage lang in Wasser cultivirten Haferpflanzen fallen also nicht weniger als 3,04% Stickstoff auf Amide und andere nicht proteinartige Verbindungen. Die Zahl ist so hoch, dass sie fast auffallend erscheinen kann;

Stickstoff in Form von Proteinstoffen:

0,93259 gr. Trockensubstanz gaben 0,0327487 gr. N in Ammoniakform (= 8,35 cc. Barytlauge).

0,93047 gr. Trockensubstanz gaben 0,0327487 gr. N in Ammoniakform (= 8,35 cc. Barytlauge).

b) 6—7 Tage in Wasser cultivirt, dann getrocknet:

Gesamt-Stickstoff:

0,66542 gr. Trockensubstanz gaben 0,0301994 gr. N in Ammoniakform (= 7,7 cc. Barytlauge).

0,95502 gr. Trockensubstanz gaben 0,0423576 gr. N in Ammoniakform (= 10,8 cc. Barytlauge).

0,67572 gr. Trockensubstanz gaben 0,0305916 gr. N in Ammoniakform (= 7,8 cc. Barytlauge).

Stickstoff in Form von Proteinstoffen:

0,91173 gr. Trockensubstanz gaben 0,0133348 gr. N in Ammoniakform (= 3,4 cc. Barytlauge).

0,88327 gr. Trockensubstanz gaben 0,00129426 gr. N in Ammoniakform (= 3,3 cc. Barytlauge).

Die Haferpflanzen enthielten eine geringe Menge von Salpetersäure (0,385% N_2O_5 , berechnet auf die Pflanzentrockensubstanz).

Titer der Barytlauge: 1 cc. = 0,003922 gr. N.

aber auch die qualitative Untersuchung führte ja, wie aus dem früher Mitgetheilten zu ersehen ist, zu dem Schluss, dass grosse Quantitäten von Amidon vorhanden waren. Wir haben ferner, um über die Quantität des Asparagins und ähnlicher Amide Aufschluss zu gewinnen, eine Bestimmung nach der Sachsse'schen Methode ausgeführt. Wässrige, durch Behandlung mit Bleiessig gereinigte Extrakte wurden einige Stunden lang mit verdünnter Salzsäure gekocht, das dabei entstandene Ammoniak sodann durch Destillation mit Magnesia ausgetrieben und in titrirter Schwefelsäure aufgefangen. Unter der Annahme, dass dieses Ammoniak ausschliesslich durch Zersetzung von Asparagin entstanden ist, würde sich für die Trockensubstanz des in Wasser cultivirten Hafers ein Asparagin-Gehalt von 9,10% berechnen, während für die Trockensubstanz des gleich nach der Entnahme vom Felde getrockneten Hafers in gleicher Weise nur ein Asparagin-Gehalt von 0,816% gefunden wurde¹⁾. Diese Zahlen können aber zu hoch sein²⁾.

Auf den von Borodin ausgesprochenen Anschauungen fussend, würde man anzunehmen haben, dass in den in Wasser cultivirten jungen Pflanzen Zerfall von Eiweissstoffen stattfand und dass die dabei entstehenden stickstoffhaltigen Zersetzungsprodukte nicht zu Eiweiss regenerirt werden konnten, weil an den dazu nöthigen stickstofffreien Stoffen

¹⁾ Nach dem Resultate dieser Bestimmung müssten also auch die frischen Haferpflanzen etwas Asparagin enthalten, obwohl wir bei Verarbeitung des Quecksilberniederschlags keine Asparaginkristalle zu gewinnen vermochten. Der anscheinende Widerspruch dieser Beobachtungen kann darin seine Erklärung finden, dass die Gewinnung von Asparagin aus dem Quecksilberniederschlage misslang, weil es in zu geringer Quantität sich vorfand. Es ist aber auch möglich, dass das beim Erhitzen des Extrakts mit Salzsäure gebildete Ammoniak nicht aus Asparagin, sondern aus einem andern Amide (Glutamin?) abgespalten worden ist.

²⁾ Sie bilden einen Ausdruck für die Menge von Asparagin und ähnlichen Amidon (Glutamin), welche in maximo vorhanden gewesen sein kann. Bei dem in Wasser cultivirten Hafer übersteigt die so gefundene Zahl die abscheidbare Asparaginmenge so sehr, dass man auf Vorhandensein anderer Amide neben Asparagin schliessen muss.

bald Mangel eintrat (denn die in der beschriebenen Weise behandelten Pflanzen konnten durch Assimilation keine stickstofffreien Stoffe bilden, weil das Licht abgeschlossen war, und erhielten auch keinen Zufluss solcher Stoffe aus den Wurzeltheilen). Unter diesen Umständen erfolgte Anhäufung von Asparagin und ähnlichen Produkten.

Wenn es Methoden gäbe, vermittelt deren man den Gehalt der grünen Pflanzen an den einzelnen stickstoffhaltigen Bestandtheilen mit Sicherheit bestimmen könnte, so müsste es lohnend sein, zur Ergänzung der oben mitgetheilten Zahlen sowohl in den frischen wie in den in der beschriebenen Weise in Wasser cultivirten Pflanzen solche Bestimmungen auszuführen. Leider lassen die für solche Zwecke verwendbaren Bestimmungsmethoden so viel zu wünschen übrig, dass mit Hülfe derselben zur Zeit nur Unvollkommenes geleistet werden kann; es erscheint daher zweckmässig, die Ausführung solcher Bestimmungen zu verschieben, bis die betreffenden Methoden weiter ausgebildet sind.

Die im Vorigen beschriebenen Untersuchungen gaben uns Gelegenheit, auch in Bezug auf das Vorkommen von Xanthin-Körpern¹⁾ in den Pflanzen einige Beobachtungen zu machen.

Bekanntlich hat G. Salomon²⁾ vor mehreren Jahren gezeigt, dass Hypoxanthin und daneben wahrscheinlich auch Xanthin in Lupinenkeimlingen enthalten ist; von Reinke und Rodewald³⁾ sind Hypoxanthin, Xanthin und Guanin im Protoplasma von *Aethalium septicum*, von Schützenberger in Hefe, welche der Selbstzersetzung überlassen war,

¹⁾ Es sei uns gestattet, unter dieser auch von G. Salomon (in den später citirten Abhandlungen) angewendeten Bezeichnung Hypoxanthin, Xanthin und Guanin zusammenzufassen.

²⁾ Verhandlungen der physiologischen Gesellschaft in Berlin, Jahrg. 1880/81, Nr. 2 und 3, S. 14. Eine Bestätigung der Angaben Salomon's lieferte der Eine von uns in einer unter Mitwirkung von J. Barbieri ausgeführten Arbeit (Journal für practische Chemie, n. F., Bd. 37, S. 358). Auch in Malzkeimen fand Salomon Xanthinkörper vor.

³⁾ Untersuchungen aus dem botanischen Laboratorium in Göttingen, Bd. II, S. 147.

aufgefunden worden. A. Baginski¹⁾ hat Hypoxanthin und Xanthin in Thee nachgewiesen; der Eine von uns²⁾ fand Hypoxanthin im Kartoffelsaft. Ferner aber lieferten auch die interessanten Arbeiten von A. Kossel,³⁾ welchen wir die Kenntniss der Bildung jener stickstoffreichen Basen aus dem Nuclein verdanken, Beweise für die Verbreitung derselben auch im Pflanzenorganismus.

Der Nachweis dieser Stoffe wird bekanntlich in der Weise geführt, dass man sie in die in Ammoniak unlöslichen Silberverbindungen überführt und letztere in heisser verdünnter Salpetersäure vom specifischen Gewicht 1,1 auflöst; beim Erkalten scheiden sich Hypoxanthin- und Guanin-Silbernitrat in feinen Krystallen aus, während die entsprechende Xanthinverbindung länger in Lösung bleibt⁴⁾; auf Zusatz von Ammoniakflüssigkeit zu dieser Lösung fällt Xanthinsilber nieder. Das Hypoxanthin und das Guanin lassen sich, nachdem sie aus den Silberverbindungen abgeschieden worden sind, durch Behandlung mit verdünnter Ammoniakflüssigkeit trennen; Hypoxanthin ist darin löslich, Guanin nicht⁵⁾.

Dass die in der beschriebenen Weise zur Abscheidung gebrachten Stoffe in manchen Fällen noch Beimengungen einschliessen, ist nicht unmöglich; denn es sind ja noch drei Körper von ähnlichem Verhalten bekannt, nämlich das Carnin, das Paraxanthin⁶⁾ und das Adenin⁷⁾.

1) Diese Zeitschrift, Bd. 8, S. 395.

2) Landwirthschaftliche Versuchsstationen, Bd. 28, S. 111.

3) Diese Zeitschrift, Bd. 5, S. 152 und 167; Bd. 6, S. 422; Bd. 7, S. 7; Bd. 8, S. 404.

4) Nach den darüber vorliegenden Angaben scheidet sich diese Xanthinverbindung aus der salpetersauren Lösung nur sehr langsam aus.

5) Man vergl. die Angaben von A. Kossel, diese Zeitschrift, Bd. 8, S. 704.

6) Entdeckt von G. Salomon (Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. 16, 2. Heft, sowie Zeitschrift für klinische Medicin, Jubelheft).

7) Entdeckt von A. Kossel (Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. 18, S. 79).

Bei Aufsuchung der Xanthinkörper in den Pflanzen verfahren wir bisher nach dem Vorgange von G. Salomon u. A. in der Regel in der Weise, dass wir die wässerigen Extrakte eindunsteten, den Rückstand wiederholt mit Weingeist auskochten und die so gewonnenen Auszüge nach dem Verjagen des Weingeists mit ammoniakalischer Silberlösung versetzten. Direkte Ausfällung der genannten Stoffe aus wässerigen Pflanzenextrakten oder Pflanzensäften durch ammoniakalische Silberlösung ist in der Regel wohl nicht thunlich, weil solche Flüssigkeiten meist Stoffe enthalten, durch welche die Silberlösung rasch reducirt wird; ¹⁾ auch können Substanzen vorhanden sein, welche die Ausfällung der Xanthinkörper hindern.

Da Hypoxanthin, Xanthin und Guanin durch salpetersaures Quecksilberoxyd fällbar sind, so war zu vermuthen, dass sich solche Körper in den Flüssigkeiten vorfinden würden, welche bei Verarbeitung der durch salpetersaures Quecksilberoxyd in den Pflanzenextrakten hervorgebrachten Niederschläge erhalten werden. Einige Versuche zeigten, dass dies in der That der Fall ist; jene Flüssigkeiten gaben fast ausnahmslos Niederschläge mit ammoniakalischer Silberlösung. Als diese Niederschläge in heisser verdünnter Salpetersäure vom specifischen Gewicht 1,1 (unter Zusatz von etwas Harnstoff) gelöst, die Lösungen der Ruhe überlassen wurden, erfolgten stets schon während des Erkaltens krystallinische Ausscheidungen, welche nach unseren gegenwärtigen Kenntnissen als aus Hypoxanthin- und Guanin-Silbernitrat bestehend angesehen werden müssen. Die von diesen Ausscheidungen abfiltrirten Flüssigkeiten gaben auf Zusatz von Ammoniak meistens nur geringe Fällungen; es scheint demnach, dass Xanthin nur in sehr unbedeutender Menge sich vorfand und vielleicht sogar in einigen Fällen ganz fehlte. Dass dieser Körper in den von uns untersuchten Objekten gar nicht vorhanden gewesen sei, ist im Hinblick auf die Resultate früherer Untersuchungen unwahrscheinlich; das Wahrscheinlichste ist wohl, dass er in die Bleiessig-Niederschläge eingegangen ist, welche

¹⁾ Wie schon von G. Salomon beobachtet worden ist (a. o. a. O.).

vor dem Zusatz des salpetersauren Quecksilberoxyds durch Filtration entfernt wurden.¹⁾

Wir haben die genannten stickstoffreichen Basen auf diesem Wege nachgewiesen in jungen Kartoffelknollen, in Zuckerrüben, in den in früher beschriebener Weise zur Entwicklung gebrachten Sprossen des Ahorns und der Platane, in der Rinde von Platanenzweigen, in Lupinen- und Kürbiskeimlingen, endlich in jungem Gras, jungem Rothklee, jungen Hafer- und jungen Wicken-Pflanzen. Dass jene Stoffe zum Theil in den untersuchten Objekten nicht präformirt waren, sondern erst während der Darstellung der Extrakte sich gebildet hatten, muss als möglich bezeichnet werden; denn nach den Untersuchungen Kossel's kann ja schon beim Erhitzen mit Wasser partielle Zersetzung der Nucleine stattfinden.

Im Allgemeinen beschränkten wir uns darauf, mittelst der oben angegebenen Reaktionen nachzuweisen, dass überhaupt Xanthinkörper vorhanden waren; in einigen Fällen haben wir aber die aus der salpetersauren Lösung aus-

¹⁾ Wir haben in 3 Fällen die bei Zerlegung des Bleiessig-Niederschlags mittelst Schwefelwasserstoff erhaltene Flüssigkeit auf Xanthinkörper geprüft und in 2 Fällen auch Niederschläge durch ammoniakalisches Silbernitrat erhalten; dieselben liessen sich aber nicht gut weiter verarbeiten, weil sehr rasch Reduktion der Silberlösung eintrat.

Ueber das Verhalten der Xanthinkörper zu Bleiessig ist Folgendes zu bemerken: Entgegen früheren Angaben fand A. Kossel (diese Zeitschrift, Bd. 6, S. 426), dass Hypoxanthin nicht durch Bleiessig fällbar ist; die gleiche Angabe findet sich auch in Hoppe-Seyler's Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse, 5. Aufl., S. 545. G. Salomon (Virchow's Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie, Bd. 95, S. 531) bestätigte dies und fand, dass auch Guanin nur bei Zusatz von Ammoniak durch Bleisalze gefällt wird (da aber Guanin im Wasser unlöslich ist, so muss wohl auch die Natur der Säure, durch welche Guanin in Lösung gehalten wird, das Resultat der Bleifällung beeinflussen). Reinke und Rodewald (Untersuchungen aus dem botanischen Laboratorium in Göttingen, S. 47) erhielten Guanin und Xanthin aus den Bleiessig-Niederschlägen, welche in den mit Wasser resp. mit sehr verdünnter Ammoniakflüssigkeit dargestellten Extrakten aus dem Protoplasma von *Aethalium septicum* gewonnen wurden. Paraxanthin wird nach G. Salomon nicht durch Bleiessig gefällt (man vergl. die oben citirten Abhandlungen).

krystallisirten Doppelsalze näher untersucht, so z. B. diejenigen, welche aus jungem Gras, Rothklee und Hafer erhalten wurden; wir vereinigten dieselben, um ein etwas grösseres Quantum in Arbeit nehmen zu können; und krystallisirten sie einmal aus Salpetersäure um; dann zerlegten wir sie unter Zusatz von etwas Salzsäure durch Schwefelwasserstoff. Die vom Schwefelsilber abfiltrirte Lösung wurde mit Ammoniak neutralisirt und sodann im Wasserbade eingedunstet, der Rückstand mit verdünnter Ammoniakflüssigkeit behandelt. Der dabei ungelöst bleibende Theil der Substanz, welcher das etwa vorhandene Guanin enthalten mußte, löste sich in verdünnter Salzsäure; aus der durch Eindampfen stark concentrirten Lösung krystallisirte ein Salz aus, welches im Aussehen dem salzsauren Guanin gleich. Die Lösung dieses Salzes gab auf Zusatz von Pikrinsäure-Solution nach einiger Zeit eine krystallinische Ausscheidung, welche vollständig das Aussehen des von Capranica ¹⁾ beschriebenen Guanin-Pikrats besass. Das Vorhandensein von Guanin ist demnach als nachgewiesen zu betrachten. Der in Ammoniakflüssigkeit lösliche Theil der oben beschriebenen Substanz wurde vermittelst ammoniakalischer Silberlösung wieder in die Silberverbindung übergeführt, letztere wieder in Salpetersäure gelöst. Das beim Erkalten aus dieser Lösung sich ausscheidende Doppelsalz hatte das Aussehen des Hypoxanthin-Silbernitrats.

Das Vorhandensein von Guanin liess sich auch nachweisen in getrockneten jungen Wickenpflanzen, von denen wir einige Kilogramm mit heissem Wasser extrahirten. Aus den Flüssigkeiten, welche bei Verarbeitung der durch salpetersaures Quecksilberoxyd in den Extrakten hervorgebrachten Niederschläge erhalten wurden, schied sich neben Asparagin und einem später noch zu erwähnenden Körper eine bräunlich gefärbte Substanz aus, welche durch heisses Wasser nicht wieder in Lösung gebracht werden konnte. Sie löste sich aber in warmer verdünnter Salzsäure; die Lösung lieferte beim Eindunsten ein krystallinisches, im Aussehen dem salzsauren Guanin gleichendes Salz. Die wässerige (unter Zusatz

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 4, S. 233.

von einigen Tropfen verdünnter Salzsäure hergestellte) Lösung dieses Salzes gab mit Pikrinsäure sehr schön die Capranica'sche Guanin-Reaktion. Durch Ammoniakflüssigkeit wurde die Lösung gefällt, ebenfalls durch ammoniakalische Silberlösung. Die durch letzteres Reagens hervorgebrachte Fällung löste sich in heisser verdünnter Salpetersäure; die Lösung lieferte beim Erkalten eine weisse krystallinische Ausscheidung. Dass die beschriebene Substanz Guanin war, dürfte wohl keinem Zweifel unterliegen. Aus der salzsauren Lösung, durch Ammoniak gefällt, bildete das Guanin eine dem unbewaffneten Auge amorph erscheinende, nur schwach gefärbte Masse, welche sich nicht in Wasser und Ammoniakflüssigkeit, leicht in warmer Salzsäure auflöste. Eine Probe derselben gab beim Eindampfen mit concentrirter Salpetersäure einen gelben Rückstand, welcher durch Kalilauge roth gefärbt wurde.

Als die Wickenpflanzen wiederholt mit heissem Wasser extrahirt wurden, zeigte sich, dass auch die spätern Extrakte, in der oben angegebenen Weise verarbeitet, noch Guanin lieferten (dem Anschein nach mindestens eben so viel, als die zuerst gewonnenen Auszüge). Es scheint demnach, dass das Guanin erst allmählig in Lösung ging oder erst allmählig durch Zersetzung anderer Stoffe sich bildete.¹⁾

¹⁾ Es sei hier darauf aufmerksam gemacht, dass die Gegenwart von Xanthinkörpern in den wässerigen Extrakten und die allmähliche Bildung dieser Körper aus den Nucleinen Schwierigkeiten bei Ausführung der Bestimmungen verursachen können, durch welche man sich über die Vertheilung des Stickstoffs auf die verschiedenen Stoffgruppen Aufschluss zu verschaffen sucht; wenn man z. B. nach der früher erwähnten Stutzer'schen Methode die wässerigen Extrakte aus Pflanzen mit Kupferoxydhydrat kocht, um Eiweissstoffe niederschlagen, so fallen vielleicht auch Xanthinkörper nieder; wenigstens erhielten wir beim Kochen reiner wässriger Lösungen von Hypoxanthin und von salzsaurem Guanin mit Kupferoxydhydrat stickstoffhaltige Niederschläge. Sodann aber wird die allmähliche Bildung von Xanthinkörpern aus den Nucleinen vermuthlich die Wirkung haben, dass man bei Extraktion von Pflanzenstoffen mit heissem Wasser erst nach sehr oft wiederholtem Auskochen an einen Punkt kommt, an welchem keine stickstoffhaltigen Stoffe mehr in Lösung gehen.

Die von der oben erwähnten, aus Asparagin, Guanin etc. bestehenden Ausscheidung abfiltrirte Mutterlauge gab mit ammoniakalischer Silberlösung einen starken Niederschlag. Aus der Auflösung desselben in heisser verdünnter Salpetersäure (hergestellt unter Zusatz von etwas Harnstoff) schieden sich beim Erkalten feine Krystalle aus. Bei der Zerlegung in der früher beschriebenen Weise (mittelt Schwefelwasserstoff u. s. w.) lieferten dieselben noch etwas Guanin, der grösste Theil bestand sehr wahrscheinlich aus Hypoxanthin-Silbernitrat.

Die im Vorigen gemachten Mittheilungen liefern eine neue Stütze der auf Grund der frühern Untersuchungen von A. Kossel ausgesprochenen Annahme, dass Hypoxanthin, Xanthin und Guanin entweder präformirt oder in gebundenem Zustande (in den Nucleinen) sowohl im thierischen Organismus wie im Pflanzenkörper in grösster Verbreitung vorkommen.¹⁾ Ferner aber dürfte aus unsern Mittheilungen zu entnehmen sein, dass bei Aufsuchung jener stickstoffreichen Basen in den Pflanzen die Ausfällung derselben durch salpetersaures Quecksilberoxyd unter Umständen mit Vortheil verwendet werden kann.

Dass aber überhaupt bei einer Prüfung der Pflanzen auf stickstoffhaltige Stoffwechselprodukte die Untersuchung der Niederschläge, welche durch salpetersaures Quecksilberoxyd in den zuvor durch Behandlung mit einer Bleisalzlösung gereinigten wässerigen Extrakten hervorgerufen werden, sehr gute Dienste leisten kann, darf behauptet werden; denn in diesen Niederschlägen finden sich ja nicht nur Asparagin und Glutamin, sondern auch Allantoin, Hypoxanthin und Guanin vor. Auch

1) Wie aus den oben im Text gemachten Mittheilungen zu ersehen ist, sind es eigentlich nur beiläufige Beobachtungen, welche wir über das Auftreten der Xanthinkörper in den Pflanzen gemacht haben. Wäre die Darstellung dieser Stoffe ein Hauptzweck unserer Untersuchungen gewesen, so würden wir selbstverständlich die von Kossel gemachten Beobachtungen verwerthet und die Pflanzen nicht mit Wasser, sondern mit einer verdünnten Säure extrahirt haben.

Tyrosin kann partiell in dieselben eingehen (wir haben z. B. bei Untersuchung der Extrakte aus Kürbiskeimlingen in den Quecksilberniederschlägen Tyrosin vorgefunden)¹⁾.

Dass man aber mittelst des genannten Fällungsmittels auch noch neue, bisher nicht bekannte Pflanzenbestandtheile zur Abscheidung bringen kann, können wir jetzt schon als sicher bezeichnen. Aus den Quecksilberniederschlägen, welche in den wässerigen Extrakten aus jungen Wicken- und Rothkleepflanzen erhalten wurden, gewannen wir einen stickstoffreichen Körper, welcher Anfangs sich aus den Lösungen in amorphem Zustand ausschied, nach dem Wiederauflösen in Wasser aber krystallinische Form annahm. In reinem Zustande bildet er feine seidenglänzende Nadeln, welche sich sehr schwer in kaltem, leichter in heissem Wasser lösen. Die wässerige Lösung (welche neutral reagirt) wird nicht gefällt durch Bleiessig und Kupferacetat, dagegen durch salpetersaures Quecksilberoxyd, Phosphorwolframsäure und Silbernitrat. Der Silberniederschlag löst sich, freilich nicht ganz leicht, in Ammoniakflüssigkeit.

Das Interessanteste an diesem Körper aber ist, dass er beim Erhitzen mit Salzsäure ein Spaltungsprodukt liefert, welches nach seinen Eigenschaften für Guanin erklärt werden muss. Es ist demnach auch nicht unwahrscheinlich, dass ein Theil des Guanins, welches wir in den wässerigen Extrakten aus den genannten Pflanzen vorgefunden haben, während der Darstellung und während der Verarbeitung der Extrakte aus jenem Körper sich gebildet hat.

Ueber diesen neuen Pflanzenbestandtheil hoffen wir bald ausführliche Mittheilungen machen zu können.

¹⁾ Die Filtration und das Auswaschen der Quecksilberniederschläge hat in den zahlreichen von uns ausgeführten Versuchen uns niemals Schwierigkeiten bereitet. Die Flüssigkeiten, welche bei Zerlegung der in Wasser suspendirten Niederschläge durch Schwefelwasserstoff erhalten wurden, waren nach dem Abfiltriren des Schwefelquecksilbers farblos oder doch nur sehr wenig gefärbt. Bei der Neutralisation und beim Eindampfen färbten sie sich nach und nach, aber doch nur selten so stark, dass daraus Schwierigkeiten für die Untersuchung der aus jenen Flüssigkeiten erhaltenen Ausscheidungen entstanden.