

# **Beiträge zur Kenntniss des Adenins, Guanins und ihrer Derivate.**

Von

**S. Schindler.**

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)  
(Der Redaction zugegangen am 20. Februar 1889.)

Durch die Auffindung des Adenins sind die bisher ausgeführten Untersuchungen über das Vorkommen der stickstoffreichen Basen, die aus dem Nuclein hervorgehen, einer Revision bedürftig geworden. Es ist zunächst die Nothwendigkeit fühlbar geworden, eine Methode zur quantitativen Bestimmung dieser Substanzen in den thierischen Geweben zu besitzen.

Ich habe auf Veranlassung des Herrn Prof. Kossel eine solche Methode ausgearbeitet und mit Hülfe derselben in einigen Geweben Analysen ausgeführt. An diese Untersuchungen habe ich Experimente angeschlossen, welche über die Zersetzung des Adenins und Guanins durch Fäulniss und durch physiologische Processe Aufschluss ertheilen sollten.

## **I. Ueber die quantitative Trennung von Adenin, Hypoxanthin, Guanin und Xanthin.**

Das Adenin ist bei den früheren Untersuchungen zum Theil als Hypoxanthin, zum Theil als Guanin bestimmt worden.

Ich legte dem von mir angewandten Verfahren die bekannte, stets angewandte Methode der Fällung als Silberverbindung zu Grunde. Die von mir benutzte Modification des alten Verfahrens bezweckt erstens eine vollständige Trennung von Guanin und Adenin und zweitens eine Bestimmung des Adenins neben dem Hypoxanthin.

### A. Trennung von Adenin und Guanin.

Den ersteren Zweck erreichte ich durch die Behandlung mit warmer wässeriger Ammoniakflüssigkeit, welche bereits von Kossel zur Trennung des Adenins und Guanins empfohlen wurde (Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. X, S. 254). Zu den folgenden Versuchen benützte ich völlig reines Guanin, dessen Stickstoffgehalt durch eine Analyse als richtig erkannt war.

0,2480 Guanin bei 110° getrocknet wurde in salzsäurehaltigem Wasser gelöst und auf dem Wasserbade in einer Glasschale mit Ammoniak digerirt. Darauf wurde die Flüssigkeit mit dem ausgefallenen Guanin durch ein bei 110° getrocknetes und gewogenes Filter filtrirt. Ich erhielt zurück 0,2472 Guanin (bei 110° getrocknet). Aus diesem Versuch folgt, dass das Guanin bei Wasserbadtemperatur in wässerigem Ammoniak so gut wie unlöslich ist. Nach Zusatz von Adenin wurde bei einem zweiten Versuch dasselbe Resultat erhalten.

### B. Trennung von Adenin, Guanin und Hypoxanthin.

Die für diesen Versuch angewandten Präparate waren als völlig rein erkannt. Das Hypoxanthin war aus Fleischextract dargestellt; sein Stickstoffgehalt, volumetrisch bestimmt, betrug 41,13% (berechnet ist 41,17%). Das Adenin war aus Thee in gut krystallisirtem Zustand gewonnen, der Stickstoffgehalt betrug 51,50 (berechnet für Adenin 51,6). Für den Trennungsversuch wurden 0,2250 gr. Hypoxanthin, 0,2090 gr. Adenin und 0,2180 gr. Guanin (bei 110° getrocknet) in salzsäurehaltigem Wasser gelöst. Die Lösung wurde ammoniakalisch gemacht und sofort mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt. Der Niederschlag wurde erwärmt, dann wieder erkalten gelassen, filtrirt, mit ammonhaltigem Wasser ausgewaschen. Das Filtrat war völlig frei von den Basen. Der Niederschlag wurde dann vom Filter genommen und Niederschlag sowie Filter jedes für sich in bekannter Weise mit Salpetersäure (spec. Gew. 1,1) unter Zusatz von Harnstoff auf dem Wasserbad erwärmt und filtrirt. Das Filtrat blieb nach Zusatz von etwas Silbernitrat 12 Stunden stehen, dann wurde es

filtrirt. Die abfiltrirte salpetersaure Flüssigkeit gab mit Ammoniak keinen Niederschlag, ein Beweis, dass kein Xanthin durch Zersetzung des Guanins gebildet war. Die ausgeschiedenen Silberverbindungen der drei Basen wusch ich zunächst mit kaltem Wasser zur Entfernung der Salpetersäure aus, spülte sie dann mit heisser verdünnter Ammoniakflüssigkeit vom Filter in eine Schale und digerirte sie längere Zeit auf dem Wasserbade. Dadurch wird die Salpetersäure aus der Doppelverbindung entfernt und die ursprüngliche Silberoxydverbindung regenerirt. Ich fügte zu dieser Ammoniakflüssigkeit etwas Silbernitrat hinzu, filtrirte nach dem Erkalten und wusch so lange mit kaltem Wasser aus, bis im Filtrat nach Zusatz von Salzsäure nicht die geringste Trübung von Chlorsilber zu bemerken war. Nun wurden die rein weissen Silberverbindungen in Wasser suspendirt und mit Schwefelammonium zersetzt. Hierbei sind einige Vorsichtsmassregeln zu beobachten, da das Schwefelsilber die Neigung hat, sich in fein vertheiltem, nicht filtrirbarem Zustande abzusetzen. Zur Bereitung des Schwefelammon verwannte ich Ammoniakflüssigkeit vom spec. Gew. 0,95, welche mit 2 Theilen Wasser verdünnt war. Man fügt die Schwefelammonlösung tropfenweise zu der siedenden Flüssigkeit. Das Absetzen des Niederschlages muss in der Wärme vor sich gehen, ein grosser Ueberschuss von Schwefelammon ist zu vermeiden. Die vom Schwefelsilber abfiltrirte klare, farblose Flüssigkeit enthält Adenin und Hypoxanthin völlig in Lösung, Guanin oft nur zum Theil (a), ein anderer Theil (b) ist in den Schwefelsilberniederschlag übergegangen. Man kocht deshalb diesen Niederschlag mit verdünnter Salzsäure aus und sättigt das Filtrat mit Ammoniak, nach einiger Zeit fällt das Guanin (b) völlig aus. Das in Lösung befindliche Guanin (a) wird nach der Digestion mit Ammoniak auf dem Wasserbad ausgeschieden. Ich vereinigte beide Portionen (a + b) auf einem bei 110° getrockneten und gewogenen Filter, wusch mit ammoniakhaltigem Wasser gut aus, trocknete und wog das Guanin (das Resultat siehe unten). Das ammoniakalische Filtrat, welches Adenin und Hypoxanthin enthielt, wurde auf dem

Wasserbad in gewogener Platinschale zur Trockne verdunstet, der Rückstand mit heissem Wasser aufgenommen und wieder eingedunstet, dann wurde die Schale mit Inhalt bei 110° getrocknet und gewogen. Ich erfuhr auf diese Weise das Gewicht von Adenin + Hypoxanthin. Ich führte nun eine Stickstoffbestimmung in dieser Mischung aus und suchte aus dem Stickstoffgehalt die relativen Mengen von Adenin und Hypoxanthin zu berechnen. Der Unterschied im Stickstoffgehalt beider beträgt 10,68%. Die Resultate dieses Versuchs waren folgende:

|                                | Angewandt: | Gefunden: |
|--------------------------------|------------|-----------|
|                                | gr.        | gr.       |
| Guanin . . . . .               | 0,2180     | 0,2161    |
| Adenin + Hypoxanthin . . . . . | 0,4340     | 0,4305    |

Das Gemisch von Adenin und Hypoxanthin enthält 46,04% N.

|                               |           |
|-------------------------------|-----------|
| Hypoxanthin enthält . . . . . | 41,17% N, |
| Adenin enthält . . . . .      | 51,85% N. |

Demnach bestand das Gemisch aus:

0,1961 gr. Adenin und  
0,2344 gr. Hypoxanthin.

Angewandt wurden:

0,2090 gr. Adenin und  
0,2250 gr. Hypoxanthin.

Drückt man die Resultate dieses Versuchs in Procenten der angewandten Substanz aus, so erhält man folgende Zahlen für die Fehler:

|  |      |
|--|------|
| für Guanin ein Minus von . . . . .               | 0,9% |
| für Adenin + Hypoxanthin ein Minus von . . . . . | 0,8% |
| für Adenin ein Minus von . . . . .               | 6,1% |
| für Hypoxanthin ein Plus von . . . . .           | 4,2% |

Aus den Zahlen ergibt sich, dass durch die analytischen Operationen ein wenig Adenin in Hypoxanthin umgewandelt wird. Die geringen Differenzen kommen bei den Analysen thierischer Organe kaum in Betracht. Sie verschwinden fast völlig, wenn man nur die Summe von Adenin und Hypoxanthin in Betracht zieht. Es giebt wenig organische Bestandtheile der Gewebe, die man mit einer gleichen Genauigkeit zu bestimmen im Stande ist. Die Abtrennung des Xanthins geschah in den unten angeführten Analysen nach

der bekannten Methode Neubauer's. Das Xanthin wurde zunächst als Xanthinsilber gefällt, dieser Niederschlag durch frisch bereitetes Schwefelammon gefällt und das Filtrat nach Verjagen des Schwefelammons von Neuem mit ammoniakalischer Silberlösung niedergeschlagen.

## II. Quantitative Bestimmung der Basen in thierischen Organen.

Mit Hülfe des beschriebenen Verfahrens führte ich in folgenden Geweben quantitative Bestimmungen aus: 1. Hoden vom Stier, 2. Sperma des Karpfens, 3. Thymusdrüse des Rindes. Die vorbereitenden Operationen wurden nach den Vorschriften Kossel's ausgeführt. Das Gewebe mit sehr verdünnter Schwefelsäure mehrere Stunden erhitzt, die Flüssigkeit mit basischem Bleiacetat gefällt, filtrirt, ausgewaschen, das Filtrat durch Schwefelwasserstoff vom Blei befreit. Die Resultate sind folgende:

### A. Hoden des Stieres.

1. 1235 gr. zerkleinerte Hodensubstanz gaben 0,8945 gr. Xanthinsilber entsprechend 0,3541 gr. Xanthin, ferner 0,2958 gr. Guanin und 0,4608 gr. Hypoxanthin, kein Adenin.

2. 950 gr. zerkleinerte Hodensubstanz gaben 0,683 gr. Xanthinsilber entsprechend 0,2703 gr. Xanthin, 0,2262 gr. Guanin, 0,361 gr. Hypoxanthin, kein Adenin.

Das Guanin wurde behufs weiterer Feststellung seiner Identität nach mehrmaliger Reinigung verbrannt und gab 46,33% N, berechnet 46,36% N.

Das Hypoxanthin ergab ohne weitere Reinigung 40,36%, nach der Reinigung durch Kochen mit Zinkstaub 41,3% N, berechnet ist 41,18%.

3. 3,571 gr. Hodensubstanz gaben nach dem Trocknen bei 110° 0,479 gr. Trockensubstanz, d. i. 13,41%.

### B. Sperma des Karpfens.

Die Testikel des Karpfens wurden im April in folgender Weise verarbeitet: Die Spermatozoen durch Schütteln der zerschnittenen Testikel mit einer Lösung von Natriumsulfat

(1 conc. Lösung : 9 Wasser) aufgeschwemmt, durch ein Colirtuch von den Hodenbestandtheilen befreit, unter Zusatz von wenig Essigsäure centrifugirt. Die Spermatozoën konnten mit schwach essigsäurehaltigem Wasser ausgewaschen und völlig gereinigt werden. Die Masse wurde dann, da die Untersuchung nicht sofort möglich war, in Alkohol gebracht, der Alkohol später abfiltrirt und der Rückstand am Rückflusskühler mit  $\frac{1}{2}$ procentiger Schwefelsäure mehrere Stunden gekocht. Die Flüssigkeit wurde nach Entfernung der eiweisshaltigen Stoffe durch basisches Bleiacetat in der eben erwähnten Weise untersucht.

7,802 gr. trocknes Sperma lieferten 0,077 gr. Xanthinsilber, d. i. 0,03 gr. Xanthin.

Die Summe von Adenin und Hypoxanthin betrug 0,4187 gr. Der Stickstoffgehalt dieser Mischung war 45,71%. Folglich bestand diese Mischung aus 0,1779 Adenin und 0,2408 Hypoxanthin. Aus dieser Mischung wurde das Adenin in völlig reinem und gut krystallisirtem Zustand dargestellt. Die Krystalle verloren ihr Krystallwasser beim Erhitzen auf  $53^{\circ}$  und erwiesen bei der Analyse (volumetrisch) einen Stickstoffgehalt von 51,70% (berechnet für Adenin 51,85).

Guanin wurde in diesem Zustand überhaupt nicht gefunden. Dies führt mit Wahrscheinlichkeit zu dem Schluss, dass es Nucleïne giebt, bei deren Zersetzung überhaupt gar kein Guanin gebildet wird.

Um die Gesammtmenge der in dem Sperma enthaltenen Basen zu gewinnen, erübrigte es noch, den Alkohol zu untersuchen, der zur Fällung des Spermas gedient hatte, da voraussehen war, dass derselbe einen gewissen Antheil der Basen aufgenommen hatte. In demselben wurde nach vorhergehender Fällung mit Bleiacetat nur Hypoxanthin gefunden und zwar 0,07040 gr. Die Reinheit der Substanz wurde durch eine Analyse erwiesen (berechnet 41,18, gefunden 40,79). Die Gesammtmenge des Hypoxanthins im Sperma betrug somit 0,3112 gr.

Beiläufig sei erwähnt, dass ich den Procentgehalt der trocknen Spermatozoën an Phosphorsäure bestimmt habe. Derselbe betrug 13,01%  $P_2O_5$ , entsprechend 5,59% P.

## C. Thymusdrüse des Kalbes.

Ich untersuchte dieses Organ als das Prototyp einer Drüse, die aus junglichem, zellenreichem Gewebe besteht.

1045 gr. des durch Präparation gereinigten Drüsengewebes nach oben beschriebenen Verfahren untersucht, lieferten 0,0785 gr. Guanin. Das Präparat zeigte alle Eigenschaften des Guanins, insbesondere die charakteristischen Formen des pikrinsauren und salzsauren Salzes.

Ferner erhielt ich 1,007 gr. Xanthinsilber, d. i. 0,398 gr. Xanthin. Letzteres wurde rein dargestellt und durch seine Reactionen identificirt.

Das Gemenge von Adenin und Hypoxanthin betrug 2,116 gr. Dasselbe enthielt 50,64% Stickstoff. Demnach befanden sich in dem Gemisch:

1,8761 gr. Adenin und  
0,2399 gr. Hypoxanthin.

Aus dem Gemenge konnte das Adenin leicht in reinem Zustand dargestellt und an seinen Eigenschaften, sowie an denen seiner Salze erkannt werden. Da die grosse Menge des Adenins in diesem Organe sehr auffallend war, so analysirte ich das gereinigte Adenin, um jeden Zweifel auszuschliessen. Die Analyse ergab folgendes Resultat:

|   | Gefunden: |       | Berechnet<br>für Adenin: |
|---|-----------|-------|--------------------------|
|   | I.        | II.   |                          |
| C | 44,32     | —     | 44,44                    |
| H | 4,00      | —     | 3,70                     |
| N | —         | 51,51 | 51,85.                   |

Die gewonnenen Resultate sind in folgender Tabelle in Procenten zusammengestellt:

## Gehalt der Gewebe an Basen in feuchtem Zustand.

| Untersuchtes Organ.        | Adenin. | Hypo-<br>xanthin. | Guanin. | Xanthin. |
|----------------------------|---------|-------------------|---------|----------|
| Hoden vom Stier I . . . .  | 0       | 0,0373            | 0,0239  | 0,0286   |
| Hoden vom Stier II . . . . | 0       | 0,038             | 0,0237  | 0,0284   |
| Thymus vom Kalb . . . .    | 0,179   | 0,0023            | 0,0075  | 0,038    |

## Dasselbe auf trockne Gewebe untersucht.

| O r g a n e .                  | Adenin. | Hypo-<br>xanthin. | Guanin. | Xanthin. |
|--------------------------------|---------|-------------------|---------|----------|
| Hoden vom Stier I . . . .      | 0       | 0,278             | 0,178   | 0,233    |
| Hoden vom Stier II . . . .     | 0       | 0,284             | 0,177   | 0,212    |
| Sperma vom Karpfen . . . .     | 2,278   | 0,3088            | 0       | 0,36     |
| Thymusdrüse des Kalbes . . . . | 1,919   | 0,218             | 0,071   | 0,360    |

Es geht schon aus der Tabelle hervor, dass die Mengen der Basen, die sich in den Geweben vorfinden, nicht unbedeutende sind. Eine richtige Vorstellung von ihrer Menge und ihrer Bedeutung gewinnt man, wenn man berechnet, ein wie grosser Theil des gesammten Stickstoffs der Gewebe in Form der Basen vorhanden. Kossel hat bereits früher derartige Bestimmungen in einzelnen Organen ausgeführt, die indess nur die Gesamtsumme der Basen betrafen.

Eine Stickstoffbestimmung in der Thymusdrüse ergab, dass dieses Organ 24,8% Stickstoff in der bei 110° getrockneten Drüsensubstanz enthielt. Hieraus ergibt sich, dass 7,15% des gesammten Stickstoffs in der Thymusdrüse in Form von Adenin enthalten sind.

### III. Ueber die Einwirkung der Fäulniss auf Adenin und Guanin.

Die über das Vorkommen der Basen in den thierischen Organen gewonnenen Resultate regen die Frage an: Welches ist das Verhalten dieser Substanzen im thierischen Stoffwechsel? Wir beobachten ausserhalb des Organismus, dass die NH-Gruppe des Adenins und Guanins leicht abgespalten und durch O ersetzt wird. Findet dieser Process auch in den thierischen Organen statt? Spielt etwa diese Abspaltung von NH, die während des Lebens geschieht, eine Rolle bei der Wanderung des NH, vom Eiweiss zum Harnstoff, wie Kossel dies angedeutet hat?

Ich habe keine entscheidenden Versuche über diese Fragen machen können, aber ich habe einige Experimente

über die Einwirkung der Fäulniss auf Adenin und Guanin, sowie über das Verhalten dieser Basen beim Selbstgährungsprocess der Hefe angestellt, die ich von diesen Gesichtspunkten aus betrachtet wissen möchte. Der Fäulnissprocess ist, wie besonders Hoppe-Seyler mehrfach hervorgehoben hat, den Lebensprocessen analog, und der chemische Process, der sich durch Fäulniss vollzieht, kann sich auch in den thierischen Organen vollziehen. Die Selbstgährung der Hefe andererseits ist ein Lebensprocess, es ist einer der einfachsten vitalen Vorgänge, die unserem Experiment zugänglich sind, und ist, vom chemischen Standpunkt betrachtet, den Zersetzungsprocessen in den Geweben höherer Organismen sehr ähnlich. Ich will das Resultat der folgenden Versuche vorausschicken: bei der Fäulniss wird die Amidogruppe aus Adenin und Guanin abgespalten und durch O ersetzt, bei der Selbstgährung der Hefe findet wahrscheinlich dasselbe statt.

Versuche über das Verhalten der Basen bei Fäulniss sind bereits von A. Baginsky (Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. VIII, S. 398) im hiesigen Laboratorium angestellt. Dieser Forscher fand, dass Guanin, Xanthin und Hypoxanthin in ungleichem Masse durch die Fäulniss zersetzt werden und zwar erwies sich das Hypoxanthin als das widerstandsfähigste.

#### A. Einwirkung der Fäulniss auf Adenin.

0,779 gr. Adenin wurden in 400 gr. Wasser gelöst, mit einem Pankreasinfus übergossen, welches durch Extraction von 250 gr. Pankreas mit 500 ccm. kaltem Wasser hergestellt war. Die Fäulniss fand bei Luftabschluss statt in einem Gefäss, welches gestattete, die Menge des entwickelten Gases annähernd zu bestimmen. Die Temperatur betrug 19—22° C., der Versuch dauerte 3 Wochen. Die Untersuchung der Flüssigkeit ergab, dass das Adenin vollständig verschwunden war. Hingegen wurden 0,543 gr. Hypoxanthin aus dem Fäulnissgemisch gewonnen, kein Guanin, und Spuren von Xanthin. Die Menge des Hypoxanthins war selbstverständlich viel zu bedeutend, als dass sie aus dem Pankreasinfus hätte stammen

können. Die Elementaranalyse des Hypoxanthins ergab folgendes Resultat:

|   | Gefunden: |       | Berechnet: |
|---|-----------|-------|------------|
|   | I.        | II.   |            |
| C | 43,95     | —     | 44,11      |
| H | 3,15      | —     | 2,94       |
| N | —         | 41,25 | 41,18.     |

Es folgt aus diesem Versuch, dass eine Umwandlung des Adenins in Hypoxanthin durch die Fäulniss bei Luftabschluss stattfindet.

### B. Einwirkung der Fäulniss auf Guanin.

Versuch 1. 1,094 gr. Guanin wurden nach Zusatz einiger Tropfen Natronlauge in circa 400 ccm. siedendem Wasser gelöst, nach dem Erkalten das aus 250 gr. Pankreas bereitete Extract hinzugefügt. Nach 11tägiger Fäulniss bei 18—21° C. hatten sich 26 ccm. Gas entwickelt. Die Untersuchung der Flüssigkeit zu dieser Zeit ergab, dass kein Guanin, kein Adenin und Hypoxanthin mehr nachzuweisen war, hingegen wurden 0,669 gr. Xanthinsilber entsprechend 0,26 gr. Xanthin gefunden. Dass das Xanthin etwa aus dem Pankreasinfus herrühre, ist nicht anzunehmen, da die Menge desselben viel zu bedeutend ist. Das aus dem Pankreas stammende Hypoxanthin war vollständig durch die Fäulniss zersetzt. Wie die Untersuchungen Baginsky's beweisen, verschwindet das Xanthin bei der Fäulniss des Pankreas früher als das Hypoxanthin, folglich musste das in dem Pankreasinfus präformirte Xanthin zersetzt und das von mir aufgefundene Xanthin ein Zersetzungsproduct des hinzugefügten Guanins sein.

Demnach geht aus diesem Versuch hervor, dass das Guanin bei der Fäulniss in Xanthin übergeht.

Dasselbe Resultat ergab der folgende Versuch.

Versuch 2. 0,613 gr. Guanin wurden 4 Tage lang der Fäulniss bei Luftabschluss ausgesetzt, wobei sich 2 ccm. Gas entwickelten. Der Pankreasauszug war mit 175 gr. Substanz bereitet worden.

Die Analyse der gefaulten Flüssigkeit ergab, dass noch nicht alles Guanin zersetzt war. Es wurden gefunden:

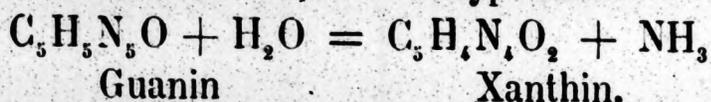
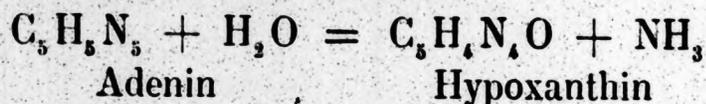
0,174 gr. Guanin,

1,0695 gr. Xanthinsilber, entsprechend 0,449 gr. Xanthin, und

0,495 gr. Hypoxanthinsilber, entsprechend 0,183 gr. Hypoxanthin.

Das aus dem Pankreas gewonnene Xanthin gab die bekannten Reactionen dieses Körpers und lieferte bei der Analyse so viel Stickstoff, wie 36,56% entsprechen. Die berechnete Menge beträgt für Xanthin 36,84.

Die Zersetzung des Guanins durch die Fäulniss ist somit der des Adenins vollkommen analog. Beide Prozesse finden in folgenden Formeln ihren Ausdruck:



Diese Prozesse finden manche Analoga unter den Zersetzungen, die durch Fäulniss hervorgerufen werden.

#### IV. Ueber das Verhalten der Basen bei der Selbstgährung der Hefe.

V. Lehmann hat im hiesigen Laboratorium das Verhalten der Basen bei diesem Process untersucht, ehe das Adenin bekannt war. Es konnten somit die oben erwähnten Fragen durch die Experimente des Herrn V. Lehmann noch nicht als erledigt betrachtet werden.

##### A. Ueber das Vorkommen des Guanins in der Hefe.

Ehe ich auf die Beschreibung meiner Versuche eingehe, will ich einen Versuch anführen, durch den ich das bisher in der Hefe ungenügend nachgewiesene Guanin mit Sicherheit als Bestandtheil dieses Pilzes feststellte.

Bereits Kossel hatte versucht, das Guanin in der Hefe sicher als solches zu erkennen, indess können die von ihm erzielten Resultate heute nach Auffindung des Adenins nicht als sicherer Beweis mehr gelten, zumal die Stickstoffbestimmung kein genaues Resultat ergeben hatte.

Zur Darstellung wurde die oben besprochene Digestion mit warmer wässriger Ammoniaklösung benutzt. Das gewonnene Guanin wurde dann mit Hilfe einiger Tropfen Salzsäure gelöst und die Lösung mit Quecksilberchlorid versetzt, das durch Schwefelwasserstoff vom Quecksilber befreite Filtrat fast bis zur Trockne eingedampft. Es krystallisirte salzsaures Guanin aus. Die in Wasser gelösten Krystalle wurden dann durch Ammoniak zersetzt und die ausfallende Base analysirt.

|                      | Gefunden: | Berechnet: |
|----------------------|-----------|------------|
| Stickstoff . . . . . | 46,54     | 46,36.     |

Somit ist das Vorkommen des Guanins in der Hefe festgestellt.

### B. Versuche über die Selbstgährung der Hefe.

Die Experimente wurden in folgender Weise ausgeführt: Von der zum Versuch benutzten Presshefe wurden 4 gleiche Portionen zu 400 gr. abgewogen.

Im ersten Theil wurden die Basen sofort bestimmt (I); im zweiten nach 24stündiger (II), im dritten nach 48stündiger (III), im vierten nach 72stündiger Digestion (IV) mit Wasser bei Zimmertemperatur.

I. 400 gr. Hefe gaben 0,5476 gr. der Mischung von Adenin und Hypoxanthin. Die Mischung enthielt: 44,65% N. Daraus ergibt sich, dass die Mischung bestand aus:

0,1735 gr. Adenin und 0,3741 gr. Hypoxanthin.

Ausserdem wurden gefunden:

0,115 gr. Guanin und 0,248 gr. Xanthinsilberoxyd.

#### II. Nach 24 Stunden:

Gemisch von Hypoxanthin und Adenin. 0,244 gr.

Stickstoffgehalt des Gemisches . . . . 42,69%.

Demnach bestand das Gemisch aus:

0,0346 gr. Adenin und 0,2094 gr. Hypoxanthin.

Ausserdem: Guanin . . . . . 0,0104 gr.

Xanthinsilber . . . . . 0,255 gr.

## III. Nach 48 Stunden:

Adenin war verschwunden.

Hypoxanthin . . . . . 0,197 gr.

Stickstoffgehalt des Hypoxanthins 41,25% (berechnet 41,18%).

Ausserdem: Guanin . . . . . 0,0711 gr.

Xanthinsilber . . . . . 0,248 gr.

IV. Nach 72 Stunden: Die Basen sind bis auf geringe Spuren verschwunden.

Die Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

|                       | Frische Hefe. | Nach 24 stündiger Selbstgährung. | Nach 48 stündiger Selbstgährung. | § Nach 72 Stunden. |
|-----------------------|---------------|----------------------------------|----------------------------------|--------------------|
| Adenin . . . . .      | 0,1735        | 0,0346                           | Spuren                           | 0                  |
| Hypoxanthin . . . . . | 0,3741        | 0,2094                           | 0,197                            | 0                  |
| Guanin . . . . .      | 0,115         | 0,0104                           | 0,0711                           | 0                  |
| Xanthin . . . . .     | 0,0982        | 0,1009                           | 0,0985                           | 0                  |

Aus diesen Versuchen lässt sich nicht mit Sicherheit eine Umwandlung des Adenins in Hypoxanthin oder des Guanins in Xanthin erschliessen, sie sind aber auch nicht im Widerspruch mit einer solchen Annahme. Es zeigt sich auch hier, ebenso wie bei den Fäulnissversuchen, dass die Zersetzung des Adenins viel schneller erfolgt, als die des Hypoxanthins und des Xanthins.

Indess war das Verhalten des Guanins ein unregelmässiges. Bemerkenswerth ist die Constanz des Xanthins in den ersten 3 Tagen.

In Anbetracht der Thatsache, dass jetzt brauchbare Methoden für die quantitative Bestimmung dieser Körper in den Thier- und Pflanzenstoffen vorliegen, darf man hoffen, dass weitere in derselben Richtung angestellte Versuche eine Aufklärung über die physiologische Bedeutung dieser Basen geben werden.