

Ueber Nucleinbildung im Säugethierorganismus.

Von

Dr. Richard Burián und Dr. Heinrich Schur.

1. Mittheilung.

(Aus der II. medicinischen Klinik [Hofrath Prof. Neusser] in Wien.)

Der Redaction zugegangen am 27. Januar 1897.)

I. Versuchsplan.

Dass die Nucleine der Nahrung nicht oder wenigstens nicht immer und ausschliesslich die Quelle der Nucleine des Körpers darstellen, wird von verschiedenen Seiten angenommen.

Diese Anschauung gründet sich einerseits auf chemische Versuche ausserhalb des Organismus, anderseits auf physiologische Untersuchungen, welche eine Bildung von Kernsubstanz im Thierleib aus anderweitigem N-haltigen Material wahrscheinlich machen.

Die rein chemischen Erfahrungen, welche zugunsten einer Nucleinsynthese sprechen, sind nicht zahlreich. Zu ihnen zählt neben den missverständlich gedeuteten und daher heute belanglosen Untersuchungen von L. Liebermann¹⁾ und Malfatti²⁾ in erster Linie die von Altmann³⁾ gefundene Thatsache, dass in sauren Eiweisslösungen durch Nucleinsäure-Fällungen entstehen, welche die Charaktere des echten Nucleins zeigen. Diese Fällungen, sowie auch die durch Thyminsäure in Syntoninlösungen erzeugten Niederschläge sind in jüngster Zeit von Milroy⁴⁾ näher untersucht und mit den natürlichen Nucleinen, resp. Paranucleinen verglichen worden. Er konnte constatiren, dass die künstlichen Nucleine zwar nicht mit den natürlichen identisch,

¹⁾ Liebermann, Centralbl. f. d. medic. Wissensch. 1889. S. 210 u. 225.

²⁾ Malfatti, Zeitschrift f. physiol. Chemie. Bd. XVI u. Bd. XVII.

³⁾ Altmann, Archiv f. Anatomie u. Physiologie. 1889. S. 524.

⁴⁾ Milroy, Zeitschrift f. physiol. Chemie. Bd. XXII. 1896. S. 305.

aber in vielfacher Hinsicht (P-Gehalt, Verhalten zu Pepsin- und Trypsinlösungen etc.) denselben sehr ähnlich sind.

Viel eindringlicher als diese chemischen Analogieen im Reagenzglas sprechen gewisse physiologische Untersuchungen für das Vorhandensein einer Nucleinsynthese im lebenden Körper.

Hierher gehört zunächst die Beobachtung von Miescher¹⁾, welcher nachwies, dass beim Rheinlachs zur Zeit des Laichens, wobei derselbe die Nahrungsaufnahme temporär einstellt, auf Kosten der schwindenden nucleinarmen Muskulatur das nucleinreiche Gewebe der Ovarien sich entwickelt.

Diese Untersuchung gibt jedoch insoferne keinen klaren Aufschluss, als die Muskeln einerseits reich an Xanthinbasen sind, andererseits nach neueren Untersuchungen²⁾ auch einen paranucleinartigen Körper (Nucleon), die Phosphorfleischsäure Siegfrieds, in bedeutenden Mengen enthalten, so dass vielleicht bloß eine Synthese einfachster Art, eine Zusammenfügung fertig vorliegender Componenten vor sich gehen müsste³⁾.

Ferner gehört zu den uns interessirenden Befunden die durch Tichomiroff⁴⁾ und durch Kossel⁵⁾ ermittelte Thatsache, dass bei Thieren, deren Eier sich extrauterin entwickeln, der Embryo bedeutend reicher an echtem basenhaltigen Nuclein ist, als der Dotter des befruchteten Eies, welcher den genannten Stoff nur in sehr geringer Menge oder überhaupt nicht enthält.

In diesem Falle mag die eine Componente der Nucleinsäure bereits fertig für die Einfügung in das Molekül derselben vorliegen, vorausgesetzt nämlich, dass die Thyminsäure wirklich mit der hypothetischen Paranucleinsäure physiologisch gleichwerthig ist. Die andere Componente hingegen, die Xanthinbasen, muss aus irgendwelchen unbekanntem Ausgangskörpern erst gebildet worden sein.

¹⁾ Miescher, Archiv für Anatomie und Physiologie. Anat. Abth. 1881. S. 193.

²⁾ Siegfried, Zeitschrift f. physiol. Chemie. Bd. XXI. S. 360.

³⁾ Uebrigens sind auch die Quantitäten echten Nucleoproteids im Muskel keine so geringen, wie man bisher annahm. S. Pekelharing, Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. XXII, 1896. S. 245.

⁴⁾ Tichomiroff, Zeitschrift f. physiol. Chemie. Bd. IX, 1885, S. 530.

⁵⁾ Kossel, Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. X, 1886, S. 249.

Endlich kann man in der Reihe der für unsere Frage werthvollen physiologischen Untersuchungen auch den Versuch von Socin¹⁾ anführen, der unseres Wissens eine Beleuchtung nach dieser Seite hin noch nicht erfahren hat. Socin fand gelegentlich seiner Versuche über Resorption von anorganischem Eisen einerseits und von Bunge's Haematogen andererseits, dass Mäuse mit einer bloß aus Eidottern bestehenden Nahrung hundert Tage und darüber am Leben und bei bestem Wohlbefinden erhalten werden können.

Auch aus diesem Experimente lässt sich entnehmen, dass Nucleinbasen aus anderweitigem Material im Organismus entstehen können, da sonst, den Fortbestand eines normalen Nuclein-Abbaues angenommen, der Nucleingehalt des Körpers und damit Wohlbefinden und Lebensfähigkeit der Thiere abgesunken wären. Vollständig beweisend erscheint der Versuch freilich nicht, da quantitative Bestimmungen der Xanthinbasen des Thierleibs vor und nach der Pseudonucleinfütterung, als nicht im Plane der Arbeit gelegen, fehlen.

Will man die Frage, ob eine Nucleinsynthese im Säugerorganismus statthat, und wie dieselbe verläuft, methodisch bearbeiten, so erscheint es am meisten Erfolg verheissend, sich an die Zersetzungsproducte des Nucleins zu halten, da dieselben bis zu einem gewissen Grade Einblick in die Zusammensetzung ihrer Muttersubstanz gewähren. Es wird sich fragen, ob die den Zersetzungsproducten entsprechenden Componenten des Nucleins im Körper zu echtem Kernstoff zusammentreten können, und ferner, ob der Organismus imstande ist, die genannten Componenten aus anderweitigem Material zu bilden, oder ob sie ihm zum Zwecke der Zusammenfügung bereits fertig geboten werden müssen.

Kossel und Neumann²⁾ haben jüngst gezeigt, dass die Thymus-Nucleinsäure bei der hydrolytischen Spaltung mit ver-

¹⁾ Socin, Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. XV, 1891, S. 93.

²⁾ Kossel und Neumann, Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. XXII, 1896, S. 74. S. auch: Dieselben, Berichte der chemischen Gesellschaft, XXVI, S. 2753 und XXVII, S. 2215.

dünnter H_2SO_4 ausser den Basen (Adenin, Guanin und Cytosin) und der „Thyminsäure“ keine anderweitigen Spaltungsproducte, besonders keine Phosphorsäure liefert. Die Thyminsäure selbst ist der N- und P-haltige, eine Kohlehydratgruppe in sich schliessende Rest des Moleküls der echten Nucleinsäure. Kossel und Neumann haben diesen Rest früher als „Paranucleinsäure“ bezeichnet, den Namen aber jetzt für die hypothetische Säure aus dem Xanthinkörper-freien Para- (oder Pseudo-) Nuclein reservirt¹⁾.

Es ergibt sich hieraus, dass wir in einem gewissen Maasse über die Nucleinsynthese orientirt sind, sobald wir über die Möglichkeit und Art der Bildung einerseits von Xanthinbasen, anderseits von Thyminsäure im Organismus Erfahrungen gewonnen haben.

Die aus dieser Ueberlegung resultirende Fragestellung lautet daher folgendermassen:

1. Können Xanthinbasen, Thyminsäure und Eiweiss im Körper zu echtem Nuclein zusammentreten, oder muss diese letztere Substanz dem Organismus als solche fertig zugeführt werden?
2. Können die für eine solche Zusammenfügung erforderlichen Xanthinbasen,
3. kann die für diese Synthese nöthige Thyminsäure im Organismus gebildet werden, oder müssen sie dem Körper fertig geboten werden, um in ihm zu Nuclein vereinigt zu werden?

Die vorliegende 1. Mittheilung beschäftigt sich zunächst nur mit der in Punkt 2 formulirten Frage, ob der Thierleib Xanthinbasen bilden und in ein Nucleinmolekül einfügen kann.

Am geeignetsten zur Entscheidung dieser Frage erschienen Untersuchungen über den Nucleinbasen-Gehalt säugender Thiere, da diese einerseits an Leibessubstanz zunehmen, also auch eine Vermehrung des Nucleins in ihrem

¹⁾ S. hiezu auch Walter, Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. XV, S. 477.

Körper von vornherein wahrscheinlich ist, anderseits aber eine an Xanthinbasen sehr arme Nahrung aufnehmen.

Was diesen letzten Punkt betrifft, so ist zu bemerken, dass zwar das Nuclein der Milch keine Alloxurbasen enthält, dass aber eine Angabe existirt, welche das Vorkommen freien Hypoxanthins in der Milch behauptet¹⁾.

Bei der Wichtigkeit dieser Frage für unsere Untersuchung sahen wir uns genöthigt, die bezeichnete Angabe einer Nachprüfung zu unterziehen.

Zu diesem Zwecke wurde zunächst eine grössere Anzahl von Kuhmilchproben — es gelangten immer $\frac{1}{2}$ bis $1\frac{1}{2}$ Liter zur Verarbeitung — nach der von Schmidt-Mülheim angewendeten Methode untersucht. Dieselbe besteht in Enteiweissung der Milch durch Sättigen derselben mit Kochsalz bei essigsaurer Reaction, Fällung des Filtrates mit Phosphorwolframsäure, Lösung des durch letztere entstandenen Niederschlages in Ammoniak und Zusatz von Silbernitrat zur ammoniakalischen Lösung. Auf diese Weise konnten wir nur in einer ganz geringen Zahl von Fällen ein Xanthinkörper-Silberpraecipitat erhalten. Dass es sich in diesen Fällen nicht um Hypoxanthin allein handelte, wurde dadurch ermittelt, dass der gewaschene Niederschlag in der bekannten Weise und unter den bekannten Cauteleu in heisser verdünnter Salpetersäure gelöst wurde. Beim Erkalten fiel die Hypoxanthin-Silberdoppelverbindung aus. Die von derselben abfiltrirte salpetersaure Lösung ergab aber auf Zusatz von Ammoniak und etwas Silber noch einen weiteren Niederschlag, so dass das Vorhandensein anderer Alloxurkörper neben dem Hypoxanthin feststand. Um bei den sehr geringen Mengen von Xanthinkörper-Material doch zu einer Entscheidung zu gelangen, wendeten wir folgendes Verfahren an.

Die Milch wurde durch Essigsäure vom Casein, hierauf durch Aufkochen bei neutraler Reaction vom coagulabelen Eiweiss befreit. Dann wurde das Filtrat mittels der Krüger-Wulff'schen²⁾

¹⁾ Schmidt-Mülheim, Pflügers Archiv, Bd. XXX, 1883.

²⁾ Krüger u. Wulff, Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. XX, 1895, S. 176.

Reagentien gefällt und der Kupferoxydulniederschlag mit Schwefelammon zerlegt. Das nach dem Ansäuern mit H Cl von Schwefelwasserstoff befreite Filtrat, das die Basen enthalten musste, wurde weiter untersucht.

Es ergab sich hierbei ausnahmslos in jeder Probe von Kuhmilch ein durch Fällung mit ammoniakalischem Silber constatirbarer Gehalt an Xanthinbasen. Dampft man die ursprüngliche, nicht mit Silber versetzte Lösung zur Trockene ab, so gibt der Rückstand deutliche Weidelsche Reaction. Hieraus folgt wiederum, dass Hypoxanthin nicht der einzige in der Milch vorhandene Körper der Xanthinreihe ist.

Anfänglich waren wir der Anschauung, dass es sich hier vielleicht um Verunreinigungen durch Harn handeln könnte. In diesem Falle müsste sich, entsprechend dem gegenseitigen Verhältniss der Alloxurkörper im Urin, der Haupttheil der in der Milch enthaltenen Alloxurkörper als Harnsäure erweisen. Durch Eindampfen des Filtrates, welches wir nach Zerlegung des Kupferniederschlages mit Schwefelammon erhielten, unter Zusatz von Salzsäure in ähnlicher Weise, wie dies bei der Ludwig'schen Harnsäuremethode geschieht, konnten wir jedoch niemals eine Harnsäure-Krystallisation erhalten.

Uebrigens waren auch in solcher Milch, welche wir unter den grössten Cautelen den gewaschenen Kuhheutern entnehmen liessen, regelmässig Xanthinkörper nachweisbar.

Kuhmilch enthält somit Nucleinbasen, und zwar neben Hypoxanthin sicher auch Xanthin. Eine genauere Identificirung war für unsere Zwecke überflüssig. Hingegen mussten wir uns über die in der Milch vorhandenen Quantitäten von Nucleinbasen Aufschluss verschaffen, was durch N-Bestimmung in dem ammoniakfrei gewaschenen Silberniederschlag geschah. Aus drei verschiedenen Milchproben erhielten wir so für je 1 Liter Milch:

I.	II.	III.
0.00412	0.0064	0.0052

Xanthinkörper-Stickstoff.

Dass diese äusserst geringen Mengen von Nucleinbasen in der Ernährung des Säuglings eine irgendwie bedeutsame Rolle spielen, ist von vorneherein unwahrscheinlich und wird weiter unten eingehend widerlegt werden. Sie sind wohl nur zufällige, in ihrer Menge etwas schwankende Bestandtheile, deren Provenienz aus zerfallenen Drüsenzellen nicht zweifelhaft sein kann.

Kehren wir nach diesem Excurs zu unserem Thema zurück.

Da der Säugling bei Zuführung von äusserst geringen Xanthinbasenmengen wächst, also auch Nuclein bildet, so musste sich durch Analyse der Leibessubstanz frisch geworfener und aufgesäugter Thiere entscheiden lassen, ob die für diese Nucleinbildung nöthige Nucleinbasenmenge im Körper erst gebildet oder demselben schon bei der Geburt als Vorrath mitgegeben wird.

Dementsprechend wurden einerseits neugeborene, andererseits aufgesäugte Thiere von demselben Wurf geföttert, und der Xanthinbasengehalt ihres Leibes bestimmt. Um möglichst vergleichbare Resultate zu haben, wurde von zwei bei der Geburt annähernd gleich schweren Exemplaren immer das eine sofort, das andere erst nach Beendigung der Stillungsperiode getödtet und zur Analyse verwendet.

II. Methodologisches.

Die Methode, nach welcher die Bestimmung des Nucleinbasengehaltes des Organbreies vorgenommen wurde, ist die von Kossel¹⁾ zur fractionirten Darstellung und Bestimmung der Xanthinkörper in Organen angegebene. Die Isolirung der einzelnen Basen wurde jedoch als für unsern Zweck überflüssig unterlassen, und der gut gewaschene Silberniederschlag direct der N-Bestimmung unterzogen.

Ursprünglich hatten wir die Absicht, mit dem Kossel'schen Verfahren die von Krüger und Wulff angegebene Fällung der Alloxurkörper zu verbinden.

¹⁾ Kossel, Zeitschrift f. physiol. Chemie. Bd. VI. S. 422.

Wir glaubten uns hierzu berechtigt, da das Filtrat, welches man nach der Fällung des schwefelsauren Organextractes mit Barytwasser und Entfernung des Barytüberschusses durch CO_2 bekommt, kein coagulables Eiweiss, sondern nur mehr Albumosen enthält. Dasselbe gibt nämlich keine oder eine in der Wärme schwindende Essigsäure-Ferrocyankalium-Reaction, hingegen starke rothe Biuretreaction. Die Kochprobe fällt negativ aus, Salzsäure und Jodquecksilberkalium, sowie Essigsäure und Kochsalz bis zur Sättigung geben in der Wärme schwindende Niederschläge. Auf der andern Seite lässt sich das durch die Extraction der Organe mit verdünnter Schwefelsäure entstandene Acidalbumin mit Leichtigkeit in dem Niederschlage nachweisen, welcher durch das Barytwasser und die hierauf eingeleitete Kohlensäure in dem Extracte entsteht. Behandelt man nämlich diesen Niederschlag mit Essigsäure oder mit Kalilauge, so geht ein durch Neutralisation fällbarer Eiweisskörper in Lösung. Das Filtrat von diesem Neutralisationsniederschlag gibt noch starke rothe Biuretreaction. Es geht also bei der nach Kossel vorgenommenen Operation in den Baryt-Niederschlag der gesammte Gehalt des Organextractes an Acidalbumin und überdies ein Theil der Albumosen über, die Lösung, welche weiter verarbeitet wird, enthält blos mehr Albumosen.

Diese Thatsache schien uns, wie oben erwähnt, zu berechtigen, die bezeichnete neutrale Lösung direct nach Krüger-Wulff zu fällen; diese Autoren sagen nämlich wörtlich: „Ebensowenig werden Amidosäuren, Peptone und Albumosen gefällt.“

Die Versuche ergaben jedoch, dass durch die Krüger-Wulff'sche Methode gegenüber der Fällung mit ammoniakalischem Silber stets zu hohe N-Werthe erhalten wurden. In der nachfolgenden Tabelle sind zum Zwecke des Vergleiches die bei der I. Versuchsreihe (s. u.) einerseits durch die Kupfer- andererseits durch die Silberfällung erhaltenen N-Zahlen zusammengestellt.

1) Krüger u. Wulff, C. c., S. 179.

Tabelle I.

Bezeichnung des Versuchsobjectes.	Nucleinbasen-N-Gehalt.	
	Nach Krüger.	Aus der Silberfällung.
Kaninchen A der I. Gruppe der I. Versuchsreihe.	0,0562	0,0274
Kaninchen A der II. Gruppe der I. Versuchsreihe.	0,0540	0,0263
Kaninchen B der I. Gruppe der I. Versuchsreihe.	0,2320	0,1215
Kaninchen B der II. Gruppe der I. Versuchsreihe.	0,3330	0,1630

(Die Zahlen der Tabelle sind, sowie alle übrigen Zahlen dieser Arbeit, das Mittel aus gut stimmenden Doppelbestimmungen.)

Ein Vergleich der obigen Werthe legt den Gedanken nahe, dass ausser den Alloxurkörpern noch andere N-haltige Stoffe des Organextractes mit den Krüger-Wulff'schen Reagentien niedergeschlagen werden. Wir entschlossen uns daher, Krüger's Angabe wenigstens bezüglich der Albumosen nachzuprüfen.

Wir kamen hierbei zu dem Resultate, dass entgegen dieser Angabe alle Albumosen theilweise durch Natriumbisulfit und Kupfersulfat gefällt werden¹⁾. Es ist wohl überflüssig, zu bemerken, dass die Albumosenpräparate, aus welchen die untersuchten Lösungen bereitet wurden, vollständig eiweissfrei und rein waren.

Tabelle II.

Albumosensorte.	N-Gehalt der Alb.Lösung.	N-Gehalt des Niederschlages nach Krüger.	Wieviel % ist letzteres vom Gesamt-N?
Protalbumose.	0,149	0,0210	14,1 %
Heteroalbumose.	0,366	0,0452	12,3 %
Deuteroalbumose.	0,156	0,0120	7,7 %

¹⁾ Strauss machte auf der letzten Versammlung deutscher Naturforscher die gleiche Angabe.

S. auch Huppert, Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. XXII, 1896, Heft 6.

In der vorstehenden Tabelle ist in der 1. Zahlen-Columnne der Gesamt-N-Gehalt von 100 cem. der betreffenden Albumosenlösung angegeben, die 2. Zahlen-Columnne enthält den N-Gehalt des in 100 cem. der Albumosen-Lösung erzeugten Kupferniederschlags, und die dritte gibt an, wie viel % des Gesamt-Stickstoffes dieser letztere N-Werth ausmacht.

Wir begreifen nach diesen Ergebnissen, dass in einem Albumosen enthaltenden Organextracte die Fällung nach Krüger höhere Stickstoffzahlen liefern muss, als dem Xanthinbasengehalte entspricht.

Andererseits erschien es aber doch nicht ausgeschlossen, dass die nach dem Kossel'schen Verfahren erhaltenen Werthe zu niedrig seien. Man könnte hiebei an die Angabe von Drechsel und von Salomon denken, dass wenig Hypoxanthin bei Gegenwart von Albumosen nicht ausfällt, eine Behauptung, von deren Richtigkeit man sich leicht überzeugen kann.

Bei der II. Untersuchungsreihe (s. u.) stellten wir daher folgende Versuche zur Controle der Silberfällung an:

A. Ein Theil des nach Kossel neutralisirten Organextractes wurde direct mit ammoniakalischem Silber gefällt, und der N-Gehalt des gewaschenen Silberniederschlags bestimmt. (Uncorrigirter Werth für den Xanthinbasen-N.) Das Filtrat von dieser Fällung wurde mit Essigsäure angesäuert, das Silber mit H_2S entfernt, und nach Verjagung des H_2S die Albumosen mit basischem Bleiacetat gefällt; hierauf wurde filtrirt und das Filtrat mit Schwefelsäure entbleit, was für diese Zwecke vollständig genügt. Die auf solche Weise albumosenfrei erhaltene Lösung wurde neuerlich mit Ammoniak und Silber gefällt. Hiebei ergab sich regelmässig noch ein allerdings geringer Gehalt derselben an Nucleinbasen, welche somit der ursprünglichen Bestimmung entgangen waren. Die Summe der N-Werthe beider Silberfällungen bezeichnen wir als den corrigirten Werth des Xanthinbasen-N. Die bei den diesbezüglichen Versuchen erhaltenen Zahlen registrirt die folgende Tabelle.

Tabelle III.

Bezeichnung des Versuchsobjectes.	N-Gehalt des durch die 1. Silberfällung erhaltenen Niederschlags. Uncorrigirter N-Werth.	N-Gehalt des durch die 2. Silberfällung erhaltenen Niederschlags. (Correctur.)	Summe beider N-Werthe. (Corrigirter N-Werth)
Dunkelbraunes Hündchen, II. Versuchsreihe I. Gruppe.	0,1670	0,0483	0,2153
Dunkelscheckiges Hündchen, II. Versuchsreihe II. Gruppe.	0,1978	0,0225	0,2203
Hellbraunes Hündchen, II. Versuchsreihe II. Gruppe.	0,5390	0,0308	0,5698
Hellscheckiges Hündchen, II. Versuchsreihe I. Gruppe.	0,4559	0,0483	0,5042

Eine Constanz im Verhältniss der Menge des 2. Niederschlages (der Correctur) zu jener der ursprünglichen Fällung besteht nicht. Offenbar bedingen verschiedene unbekannte Umstände, wieviel von den Nucleinbasen in der albumosenhaltigen Lösung der Fällung entzogen werden. Bemerkenswerth ist, dass auch die Doppelbestimmungen der corrigirten Werthe im Ganzen besser auf einander stimmen, als die Doppelbestimmungen der uncorrigirten Zahlen. So ist der uncorrigirte Werth in der 1. Rubrik der vorstehenden Tabelle das Mittel aus 0,165 und 0,169; die Differenz beträgt 4,0 mgr., d. i. 2,4%. Die Fällung des in Lösung erhaltenen Restes ergab für die erste dieser beiden Zahlen eine Correctur von 0,0498, für die zweite nur eine Correctur von 0,0468, so dass also der in der letzten Columnne angeführte corrigirte Werth das Mittel aus 0,2158 und 0,2148 ist: die Differenz der beiden Bestimmungen beträgt für den corrigirten Werth also nur 1,0 mgr., d. i. 0,46%. Ebenso ist beispielsweise der uncorrigirte Werth in der letzten Rubrik der Tabelle III das Mittel aus 0,4537 und

0,4581, so dass die Doppelbestimmungen wieder um 4,4 mgr. d. i. 0,9% auseinandergehen; nach Addition der zu jedem dieser Werthe gehörigen Correctur unterscheiden sich die Bestimmungen nur mehr um 1,2 mgr., d. i. um 0,24%.

Daraus ergibt sich, dass auch in Albumosenlösungen von derselben Concentration — aus solchen stammen ja die Doppelbestimmungen — noch anderweitige Bedingungen die Menge der in Lösung erhaltenen Nucleinbasen bestimmen.

B. Ein anderer Theil des nach Kossel neutralisirten Organextractes wurde ohne vorausgehende Silberfällung direct mit Bleiacetat zur Entfernung der Albumosen behandelt und dann wie oben, nach Entfernung des Bleies mit ammoniakalischen Silber gefällt. Hierbei ergab sich auffallenderweise regelmässig ein Deficit schon gegenüber dem nach A ermittelten uncorrectirten Werthe, welches noch grösser erscheint, wenn man den correctirten Werth zum Vergleich heranzieht.

Tabelle IV.

Bezeichnung des Versuchsobjectes.	N-Gehalt des nach Entfernung der Albumosen erhaltenen Silber- niederschlags.	Uncorrectirter Xanthinbasen- N-Werth.	Correctirter Xanthinbasen- N-Werth.
Hellbraunes Hündchen. II. Versuchsreihe II. Gruppe.	0,5082	0,5390	0,5698
Hellscheckiges Hündchen. II. Versuchsreihe I. Gruppe.	0,4292	0,4559	0,5042
Brauner Mops. III. Versuchsreihe II. Gruppe.	0,1184	0,1411	—
Scheckiger Mops. sonst nicht ver- wendet.	0,1270	0,1540	—

Schon Kossel¹⁾ selbst hat Versuche in dieser Richtung angestellt, um die Frage zu entscheiden, ob die Albumosen auf die Fällung der Xanthinbasen hindernd einwirken. Er fand von Xanthin und Hypoxanthin in der mit Bleiacetat behandelten Lösung etwas mehr, als in der nach seiner Methode neutralisirten und dann direct gefällten Flüssigkeit. Dieses geringe Plus beachtet er nicht, da er auf der anderen Seite beim Guanin in der durch Blei von Albumosen befreiten Lösung ein Deficit findet (0,118 gegenüber 0,154 bei directer Fällung). Er zieht aus diesen Resultaten den Schluss, dass die Anwesenheit von Albumosen für die Fällung der Nucleinbasen durch Silber gleichgültig ist. Wir können nach den unter A angeführten, in der Tabelle III registrirten quantitativen Verhältnissen diesen Schluss nicht bestätigen, da nach vorausgegangener erstmaliger Fällung der Basen bei Gegenwart von Albumosen und darauffolgender Entfernung der letzteren regelmässig noch eine geringe zweite Basenfällung erhalten werden kann. Andererseits ist aber auch eine directe Ausfällung der Albumosen mit Blei nach Tabelle IV nicht zulässig, weil hierbei 6—12% der Basen verloren gehen. Offenbar wird also durch das basische Bleiacetat ein Körper gefällt, der sonst in den Silberniederschlag übergeht. Guanin, welchem dieses Verhalten zukommt, dürfte wohl hierbei kaum in Betracht zu ziehen sein. — Nur durch diese unsere Annahme wird es verständlich, dass trotz der fällungshindernden Wirkung der Albumosen auch sogar der uncorrigirte Werth höher ist, als der nach vorausgegangener Bleibehandlung erhaltene.

C. Ein dritter Antheil des nach Kossel neutralisirten Organextractes wurde nach Krüger gefällt, der Niederschlag aus den früher angeführten Gründen jedoch nicht der N-Bestimmung unterzogen, sondern mit Schwefelammon zersetzt, das Filtrat vom Schwefelkupfer mit Salzsäure angesäuert und nach Verjagung des H₂S mit ammoniakalischem Silber gefällt. Die Resultate zeigt

¹⁾ Kossel, Zeitschrift f. physiol. Chem., Bd. VIII, 1884, S. 404.

Tabelle V.

Bezeichnung des Versuchsobjectes.	N-Werth nach der Krüger- Fällung.	Uncorrigirter Basen-N-Werth.	Corrigirter Basen-N-Werth.
Hellbraunes Hündchen. II. Versuchsreihe II. Gruppe.	0.5005	0.5390	0.5698
Hellscheckiges Hündchen. II. Versuchsreihe I. Gruppe.	0.4272	0.4559	0.5042

Während also Krüger's Reagentien einerseits im Organ-extracte mehr N-haltige Substanzen niederschlagen, als ammoniakalisches Silber, scheint anderseits die durch sie erhaltene Fällung die Xanthinbasen nicht vollständig zu enthalten. Ein abschliessendes Urtheil über diese letztere Frage können wir mangels einer genügend grossen Zahl von Untersuchungen allerdings nicht abgeben. Kurz erwähnt sei nur, dass zur Zersetzung des nach Krüger-Wulff erzeugten Niederschlages sich farbloses Schwefelammon am besten eignet.

Wir müssen nach alledem als Résumé unserer methodologischen Erfahrungen die Behauptung aufstellen, dass der höchste und wohl den wirklichen Verhältnissen am besten entsprechende Werth für den gesammten Xanthinbasen-N-Gehalt von Organen derjenige ist, welchen wir als den corrigirten bezeichnen.

III. Ergebnisse.

Wir benutzten zunächst Kaninchen von ein und demselben Wurf zu Untersuchungen nach dem sub I mitgetheilten Plane. In dieser ersten Versuchsreihe finden sich noch keine corrigirten Werthe, weil wir hier neben dem einfachen Kossel'schen Verfahren nur das Krüger'sche mit directer N-Bestimmung anwandten. (S. o. Tabelle I.)

Tabelle VI.
I. Versuchsreihe.

Bezeichnung des Versuchsobjectes.	Gewicht bei der Geburt.	Gewicht zur Zeit der Analyse.	Uncorrigirter Xanthinbasen- N Werth.	
Kaninchen A . . .	46,7	46,7	0,0274	I. Gruppe
Kaninchen B . . .	47,0	204,0	0,1215	
Kaninchen A . . .	38,8	38,8	0,0263	II. Gruppe
Kaninchen B . . .	37,9	167,8	0,1630	

Jede der beiden Gruppen der obigen Versuchsreihe umfasst zwei Thiere, welche bei der Geburt annähernd gleich schwer waren, und von welchen das eine, A, sofort, das andere, B, 18 Tage später nach Ablauf der Säugeperiode der Analyse unterworfen wurde. Die beiden ersten Columnen enthalten die Körpergewichte der Thierchen zur Zeit der Geburt und zur Zeit der Analyse. Für die beiden Kaninchen A fallen diese Zahlen selbstverständlich zusammen, weil dieselben sofort nach der Geburt getödtet und verarbeitet wurden. Bei den Kaninchen B stieg in der zwischen Geburt und Analyse verstrichenen Zeit das Körpergewicht auf das 4,3—4,4fache des Ausgangsgewichtes an.

Die dritte Zahlencolumne enthält die Basen-N-Werthe. Nehmen wir für das Kaninchen B der I. Gruppe an, dass es entsprechend dem gleichen Gewichte bei der Geburt auch den gleichen Xanthin-Basengehalt besass, wie das Kaninchen A derselben Gruppe, so zeigt sich eine Zunahme dieses Basengehaltes um das 4,5fache des Anfangswerthes: der absolute Zuwachs an Nucleinbasen-N beträgt ca. 0,09 gr. Machen wir für das Kaninchen B der II. Gruppe die analoge Annahme, so müssen wir einen Anstieg seines Basengehaltes auf das 6,2fache des Ausgangswerthes im Laufe der Säugeperiode erschliessen: das absolute Plus an Xanthinbasen-N beträgt ca. 0,14 gr.

Leider waren wir nicht in der Lage, Kaninchenmilch zu untersuchen, und mussten daher, um einen quantitativen Ueberblick zu gewinnen, auf unsere Erfahrungen an Kuhmilch recurriren. Wir erinnern daran, dass 1 Liter der letzteren ca. 5 mgr. Xanthinbasen-N enthält. Während 18 Tagen hatten die wachsenden Kaninchen etwa 0,1 Nucleinbasen-N in ihrem Leibe aufgespeichert, eine Menge also, die erst in 20 Litern Milch enthalten ist. Um das Plus an Xanthinbasen aus ihrer Nahrung zu decken (und hiebei lassen wir die Basenausscheidung in Harn und Faeces ganz aus dem Spiele), hätten die Thierchen somit mehr als einen Liter Milch pro die aufnehmen müssen, das heisst etwa das 4-20fache ihres Körpergewichtes. Allerdings wird hiebei angenommen, dass die Kaninchenmilch keine höhere Concentration an Nucleinbasen besitzt als Kuhmilch.

Trotz dieses logischen Mangels in unserer Ueberlegung, macht dieselbe es recht wahrscheinlich, dass die Xanthinbasen im säugenden Thiere aus anderweitigem N-haltigen Material entstanden sind.

Um zu stringenten Ergebnissen zu gelangen, entschlossen wir uns, eine 2. Versuchsreihe an jungen Hunden auszuführen, weil hier eine Untersuchung der zugehörigen Muttermilch sehr wohl im Bereiche der Möglichkeit liegt. Unsere inzwischen gemachten Erfahrungen bedingen es, dass hier bereits die corrigirten Werthe in der Tabelle erscheinen.

Tabelle VII.

II. Versuchsreihe.

Bezeichnung des Versuchsobjectes.	Gewicht bei der Geburt.	Gewicht zur Zeit der Analyse.	Corrigirter Xanthinbasen-N-Werth.	
Dunkelbraunes Hündchen.	198,0	198,0	0,2153	I. Gruppe
Hellscheckiges Hündchen.	208,0	770,0	0,5042	
Dunkelscheckiges Hündchen.	225,0	225,0	0,2203	II. Gruppe
Hellbraunes Hündchen.	230,0	808,0	0,5698	

Nachdem diese Tabelle genau so angelegt ist, wie Tabelle VI, so ist jede weitere Erörterung überflüssig. Machen wir hier dieselben Annahmen wie dort, so ist auch hier die Zunahme des Xanthinbasengehaltes im säugenden Thiere während der dreiwöchentlichen Säugeperiode deutlich ausgesprochen. Der absolute Zuwachs an Nucleinbasen-N im ganzen Thiere beträgt ca. 0,3.

Was nun die Milch des Mutterthieres betrifft, so wurde dieselbe nach Beendigung der dreiwöchentlichen Säugeperiode dem Thiere durch Melken entnommen. Wir erhielten jedoch trotz mehrtägiger wiederholter Manipulationen nur 136 ccm. In diesem Quantum liess sich das Vorhandensein von Xanthinbasen nach der in dem 1. Abschnitte dieser Arbeit erwähnten Methode wohl constatiren, aber die Menge des Silberniederschlags war eine so minimale, dass eine N-Bestimmung in demselben aussichtslos erschien.

Uebrigens wurde auch von einer zweiten säugenden Hündin die Milch untersucht — mit dem gleichen Erfolge. Wir gewannen in diesem Falle 180 ccm. Hier wurde auch der Versuch gemacht, eine quantitative Bestimmung des N-gehaltes in dem Silberniederschlage auszuführen. Wir erhielten den Werth 0,00014, welcher freilich, da er ganz innerhalb der Fehlergrenzen der Methode liegt, keinen Anspruch auf Genauigkeit erheben kann.

Hätten die Hündchen die Vermehrung ihres Xanthinbasen-N um 0,3 aus ihrer Nahrung bestritten, und hätte ein jedes von ihnen während der 20 Tage des Säugens 100 ccm. Milch pro die aufgenommen — ein Werth, der gewiss noch zu hoch gegriffen ist —, so müssten 2 Liter Hundemilch 0,3 und 100 ccm 0,015 Xanthinbasen-N enthalten, nicht aber jene unbestimmbaren Spuren, die wir in dieser Menge auffanden.

Unsere beiden Versuchsreihen liefern also das unbestreitbare Resultat, dass im säugenden Thiere Xanthinbasen aus anderweitigem N-haltigen Material gebildet werden.

Es handelt sich hierbei offenbar um Xanthinbasen, die in das Nucleinmolekül eingefügt sind, nicht um sogenannte freie Basen. Um aber für jeden Fall die Vermehrung der Basen mit

jener des Nuclein-Phosphors vergleichen zu können, wurde in einer III. Versuchsreihe auch der letztere nach der von Kossel¹⁾ geübten elementar-analytischen Methode bestimmt.

Es wurde hiebei zur P-Bestimmung $\frac{1}{10}$ des ausserordentlich genau gemischten Organbreies verwendet, $\frac{9}{10}$ blieben für die Basenbestimmung reservirt.

Tabelle VIII.
III. Versuchsreihe.

Bezeichnung des Versuchsobjectes.	Gewicht bei der Geburt.	Gewicht zur Zeit der Analyse.	Xanthinbasen-N-Werth.	Nuclein-P.	
Dunkelscheckiges Hündchen.	225	225	0,2203 correctirt	0,062	I. Gruppe.
Hellbraunes Hündchen	230	808	0,5698 correctirt	0,214	
Brauner Mops (von einem andern Wurf).	182	182	0,1411 uncorrectirt	0,068	II. Gruppe.
Hellscheckiges Hündchen.	208	770	0,4559 uncorrectirt	0,235	

Die Tabelle lehrt, dass der Zuwachs an Xanthinbasen jenem an Nucleinphosphor im wachsenden Organismus fast proportional ist. Die Steigerung des Nucleinphosphorgehaltes ist etwas grösser als jene des Nucleinbasen-N-Gehaltes. Während der letztere in der Säugeperiode auf das 2,5—3fache des Anfangswerthes anwächst, steigt der erstere auf das 3,5fache des Ausgangswerthes, ein Verhalten, auf welches wir jedoch kein Gewicht legen wollen.

Halten wir uns das Ergebniss unserer Untersuchungen noch einmal vor Augen, dass nämlich behufs Einfügung in ein Nucleinmolekül Xanthinbasen im Organismus aus unbekanntem Ausgangsmaterial entstehen können, so bleibt uns bezüglich dieses Vorganges selbst die Wahl zwischen zwei verschiedenen Anschauungen.

¹⁾ Kossel, Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. VII, S. 9.

Entweder wir denken uns, dass die Xanthinbasen eine Stufe im Abbau der Eiweisskörper darstellen, und dass dieses Abbauprodukt dort, wo Nuclein gebildet wird, durch dasselbe assimiliert werde: oder wir stellen uns vor, dass das Nuclein bei dem Prozesse der Ernährung mittels Eiweisskörpern eine Atomgruppe dieses letzteren Nahrungsstoffes bei der Aufnahme derartig umlagert, dass diese Atomgruppe nunmehr als Xanthinbasenanteil im Nucleinmolekül figurirt.

Wir werden uns wohl für die letztgenannte Annahme entscheiden müssen. Wenigstens wäre für die erstere im gesammten thierischen Stoffwechsel keine Analogie vorhanden. Die Pflanzen sind allerdings vermöge ihrer Fähigkeit zu den weitestgehenden Synthesen imstande, Asparagin (Pfeffer 1872) und andere Eiweisspaltproducte von ganz geringem Energiegehalte mit N-freien, zuckerartigen Körpern zusammenzufügen und zur Bildung lebender Substanz zu verwenden. Für den thierischen Organismus aber dürfen wir nicht annehmen, dass er so energiearme Producte eines tiefgehenden Zerfalles lebender Substanz, wie es die Xanthinbasen sind, noch einmal zum Aufbau lebendigen Materials verwenden könne.

Es bleibt uns also nur übrig, anzunehmen, dass irgend eine Gruppe im Eiweissmolekül der Umwandlung in die Xanthinbasengruppe des lebenden Nucleins fähig ist.

Der Erforschung dieser Gruppe des Eiweissmoleküls nachzugehen, wäre eine der weiteren Aufgaben, die im Plane unserer Untersuchungen liegen.

Die nächste Mittheilung wird sich jedoch zuerst mit der in Punct 3 unseres Frageschemas aufgeworfenen Frage befassen, ob auch der Thyminsäureanteil des Nucleins im Körper aus anders geartetem Material entstehen kann, oder ob diese complicirte, N- und P-haltige, Thymin und eine Kohlehydratgruppe in sich schliessende Substanz dem Organismus in Form von Nuclein oder Paramuclein geboten werden muss, wenn sich in demselben Kernsubstanz neubilden soll.