

Über die Guanase.

Von

Walter Jones und C. L. Partridge.

(Aus dem Laboratorium für physiologische Chemie an der Johns Hopkins-Universität.)
(Der Redaktion zugegangen am 4. Juli 1904.)

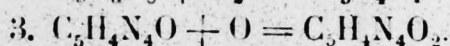
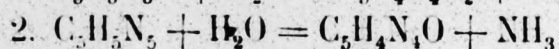
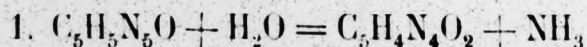
Es ist wiederholt gezeigt¹⁾ worden, daß die Purinkörper, die bei der Selbstverdauung der Drüsen gebildet werden, nicht identisch sind mit den Produkten, die man durch Hydrolyse der entsprechenden Nucleoproteide mit kochenden Mineralsäuren erhält. Im letzteren Falle liefern tatsächlich alle Nucleoproteide (Nucleinsäuren) Guanin und Adenin, während die autolytischen Produkte für verschiedene Drüsen verschiedene sind, wie die folgende Tabelle ergibt:

	Xanthin	Hypoxanthin	Guanin	Adenin
Thymus	In großen Mengen	Spurenweise	fehlt	fehlt
Nebenniere . . .	In großen Mengen	Spurenweise	fehlt	fehlt
Milz	fehlt	vorhanden	vorhanden	fehlt

Diese anscheinende Anormalität kann nicht der Annahme dienen, daß die Xanthinbasen der Selbstverdauung nicht aus der Nucleinsäure stammen, seit gezeigt worden ist, daß die isolierten Nucleoproteide enzymatisch wirksam sind und bei der Verdauung dieselben Basen liefern, welche bei der Digestion der ganzen Drüse entstehen. Die Sache erklärt sich sehr einfach aus der Anwesenheit von Fermenten in den Geweben,

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLI, S. 101 und Bd. LXII, S. 201.

wodurch Guanin in Xanthin, Adenin in Hypoxanthin und Hypoxanthin in Xanthin übergeführt wird. Also



Da die Thymus und die Nebenniere eine überwiegende Menge Xanthin liefern, so können diese Drüsen eben alle drei Funktionen haben und die Spur Hypoxanthin muß als Übergangsprodukt bei der Überführung von Adenin in Xanthin betrachtet werden. Die Milz kann offenbar Adenin in Hypoxanthin überführen, aber keine von den beiden anderen Überführungen ermöglichen, sodaß die Wirkung von Thymus und Leber mindestens von zwei Enzymen abhängig gemacht werden muß.

Die Resultate der Kutscherschen¹⁾ Arbeit über Selbstverdauung finden keine so leichte Erklärung. Er unterwarf 450 g vorher getrockneten Pankreas in alkalischer Flüssigkeit bei 40° ungefähr 5 Monate der Digestion, und unter Anwendung einer sehr scharfen Methode der Analysen bekam er schließlich:

Guaninsilbernitrat	0.909 g
Adeninpikrat	1.619 »
Hypoxanthinsilbernitrat	0.226 »
Xanthinsilber	0.255 »

Diese Resultate waren für uns sehr interessant, da ja das Hauptprodukt Adenin ist, eine Base, die wir unter den autolytischen Produkten keiner andern Drüse finden konnten. Wir untersuchten deshalb die Xanthinbasen, die bei der Selbstverdauung des Pankreas entstehen, bedienten uns aber der frischen Drüse und wandten ein Isolierungsverfahren an, bei welchem selbst keine Xanthinbasen gebildet werden können, wie wir mit häufigen Versuchen bewiesen haben.²⁾

Wir erhielten Xanthin in bedeutend überwiegender Menge und eine kleine Quantität Hypoxanthin, konnten aber weder von Guanin noch von Adenin eine Spur nachweisen.

¹⁾F. Kutscher, Die Endprodukte der Trypsinverdauung, Habil.-Schrift Marburg 1899, bei Karl J. Trübner, Straßburg.

²⁾ Um Wiederholungen zu vermeiden, sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, daß jeder der hier beschriebenen Versuche durch einen Parallelversuch kontrolliert wurde.

Eine Mischung von 2030 g fein zerriebenem frischen Pankreas wurden mit 4 l Wasser und genügend Chloroform in einem gut verschlossenen Gefäß 36 Stunden in einem Thermostaten bei 40° stehen gelassen. Das Produkt wurde mit 2 cem 30%iger Essigsäure behandelt, zum Kochen erhitzt, filtriert und nach dem Erkalten stark mit Ammoniak alkalisch gemacht. Der kristallinische Niederschlag von Magnesiumammoniumphosphat, der entstand, fand sich frei von Xanthinbasen und das Filtrat wurde behandelt mit ammoniakalischer Silbernitratlösung. Nun wurde der Silberniederschlag in Wasser aufgeschwemmt, mit Salzsäure zersetzt und dann die saure Flüssigkeit, nach Abfiltrieren vom Silberchlorid, mit Hilfe der bekannten Methode von Krüger und Salomon¹⁾ auf Xanthinbasen untersucht.

Wir bekamen schließlich 1,50 g Xanthinnitrat und 0,250 g Hypoxanthinnitrat, während Guanin und Adenin sich nicht fanden. Das Xanthinnitrat wurde in die freie Base übergeführt und analysiert.

I. 0,2156 g Substanz erforderten 10,20 cem Schwefelsäure
(1 cem = 0,007814 g N).

II. 0,1813 g Substanz erforderten 8,52 cem Schwefelsäure.

Für Xanthin

berechnet	gefunden	
	I.	II.
N 36,84	36,97	36,72.

Über die Überführung von Guanin in Xanthin durch das Pankreasenzym.

Das Guanin fehlt nicht nur unter den Produkten der Pankreasselbstverdauung, sondern, wenn man es in ein Gefäß, in dem diese Autolyse vor sich geht, hineinbringt, so verwandelt es sich sehr schnell in Xanthin, wie die folgenden Versuche zeigen werden:

I. 1,2 g reines Guaninhydrochlorat wurden in 300 cem Wasser aufgeschwemmt, die Flüssigkeit sorgfältig mit Ammoniak neutralisiert und in ein Gefäß mit 500 g fein verteiltem Pankreas hinübergespült; nach Zusatz von Chloroform ließ man das Ganze

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXVI. S. 373.

3 Tage lang bei 40° stehen, worauf die Produkte auf Xanthinbasen untersucht wurden. Gleichzeitig wurde ein Kontrollversuch mit 500 g Pankreas gemacht.

	Xanthinnitrat	Guaninhydrochlorid
Im beschickten Gefäß:	0,586	0,640
Beim Leerversuch:	0,320	nichts
Xanthinnitrat, das aus Guanin entstanden ist:	0,226.	

So war also innerhalb dreier Tage ungefähr 20% des hinzugefügten Guanins in Xanthins übergeführt.

II. 0,720 g Guaninhydrochlorid wurden wie in Versuch I behandelt und in ein Gefäß mit 260 g Pankreassubstanz gefüllt. Die Digestion wurde 8 Tage fortgesetzt und ein Leerversuch mit 260 g Pankreassubstanz gleichfalls angesetzt.

	Xanthinnitrat	Guanin
Guaninversuch:	0,770	keine Spur.
Leerversuch:	0,195	
Xanthinnitrat aus Guanin entstanden:	<u>0,575.</u>	

Danach war also innerhalb 8 Tagen das ganze Guanin verschwunden und ein Zuwachs an Xanthin aufgetreten, der 80% des eingeführten Guanins entsprach. Wir sind sicher davon überzeugt, daß diese Überführung quantitativ erfolgt.

Das beim zweiten Versuche gewonnene Xanthinnitrat wurde in die freie Base verwandelt und dann analysiert.

I. 0,2027 g Substanz erforderten 9,49 ccm Normalschwefelsäure
(1 ccm = 0,007814 g N.)

II. 0,1883 g erforderten 8,83 ccm Säure.

Für Xanthin

berechnet	gefunden	
	I.	II.
N 36,84	36,59	36,65.

Das Enzym im Pankreas, welches diese Überführung von Guanin in Xanthin hervorruft, ist kein Trypsin, wie aus dem folgenden Versuch hervorgeht.

0,520 g Guaninhydrochlorat wurde in Wasser aufgeschwemmt, mit Ammoniak neutralisiert und mit sehr wirksamem Pankreaspulver versehen, worauf man das Ganze 5 Tage lang bei 40° stehen ließ. Unter den Produkten, die entstanden

waren, ließ sich keine Spur von Xanthin auffinden, wohl aber Guanin, das nach Überführung in das Hydrochlorat 0,480 g wog.

Das Pankreas enthält somit ein Enzym, das die Überführung von Guanin in Xanthin zustande bringen kann und dem wir den Namen *Guanase* geben wollen. Aus unserer früheren Arbeit geht völlig klar hervor, daß ein solches Enzym auch in der Thymus und Nebenniere existiert, jedoch nicht in der Milz.¹⁾ Die Arbeit über die Selbstverdauung der Milz erweist, daß Adenin in Hypoxanthin übergeführt werden kann auch bei Abwesenheit von Guanase, und diese Überführung kann man deshalb einem anderen Enzym (*Adenase*) zuschreiben, das offenbar in der Thymus, der Nebenniere und dem Pankreas vorkommt.

In Beziehung auf die oben zitierte Arbeit von Kutscher wird folgender Versuch von Interesse sein. Ein Quantum Thymusdrüsensubstanz wurde mit Wasser extrahiert und das Nucleoproteid mit Essigsäure gefällt; der Niederschlag sodann abzentrifugiert, vollständig ausgewaschen, in Wasser aufgeschwemmt und unter sorgfältigem Zusatz von Natriumkarbonat gelöst. Ungelöste Partikelchen wurden dann durch die Zentrifuge entfernt und dann das Nucleoproteid wieder mit Essigsäure ausgefällt. Dieser Reinigungsprozeß wurde so oft wiederholt, bis man schließlich eine schwach alkalische Lösung des Nucleoproteids erhielt, die nur noch opaleszierte.

Nur die Hälfte dieser Lösung wurde schwach mit Essigsäure angesäuert und 5 Tage lang bei 40° digeriert. Das Nucleoproteid war offenbar stark enzymatisch wirksam, denn am Ende der Digerierung ließ sich ein bedeutendes Quantum Xanthin, direkt fällbar mit Silbernitrat und Ammoniak, nachweisen.

Aus der anderen Hälfte der enzymatisch wirksamen Nucleoproteidlösung wurde das Nucleoproteid mit Essigsäure ausgefällt, gewaschen und mit Alkohol und Äther getrocknet. Nach 2wöchentlichem Stehen im Exsikkator wurde die Substanz in Wasser aufgeschwemmt, durch Zusatz von Natriumkarbonat gelöst und nachdem man sie mit Essigsäure wieder schwach

¹⁾ Die Anwesenheit von Guanase in der Leber soll schließlich noch in einer späteren Publikation erwiesen werden.

sauer gemacht hatte, 3 Wochen bei 40° digeriert. Von Zeit zu Zeit wurde ein Teil der Flüssigkeit entfernt und auf Xanthinbasen untersucht, jedoch stets mit negativem Erfolg.

Dieser Versuch mit der Thymus erweist zwar nicht, daß die in Rede stehenden Pankreasenzyme durch die Behandlung mit Alkohol und Äther außer Tätigkeit gesetzt oder beseitigt wären, ist aber von besonderem Interesse im Hinblick auf die Tatsache, daß Kutscher bei dem oben zitierten Versuch hauptsächlich die durch Hydrolysen zu gewinnenden Purinbasen erhielt und nicht diejenigen, welche durch die Autolyse gebildet werden.