

Über die Fermente des Nucleinstoffwechsels.

Von

Alfred Schittenhelm.

(Aus dem Laboratorium der medizinischen Klinik zu Göttingen: Geheimrat E b s t e i n.)

(Der Redaktion zugegangen am 3. Oktober 1904.)

Vor kurzem¹⁾ konnte ich mitteilen, daß mir der Nachweis des quantitativen Übergangs der Aminopurine, Adenin und Guanin, in Harnsäure unter der Einwirkung von Gewebsfermenten gelang. Sodann konnte ich konstatieren, daß auch die an Thymusnucleinsäure gebundenen Purinkörper von den Fermenten in Harnsäure umgewandelt werden. Endlich erwähnte ich noch kurz, daß die wirksame Oxydase sich aus dem Milzextrakt mit Ammonsulfat aussalzen lasse.

Inzwischen habe ich meine Untersuchungen noch weiter ausgedehnt und nicht nur die verschiedensten Organe auf ihre harnsäurebildende Fähigkeit durchgeprüft, sondern vor allem mein Augenmerk auch auf die Zwischenstufen gerichtet, welche die Aminopurine bei ihrer Oxydation zu Harnsäure notwendig durchheilen müssen. Meine Untersuchungen hierüber sind noch nicht abgeschlossen und ich verzichte daher vorderhand auf eine breitere Ausführung der Harnsäurebildung. Ich glaube jedoch einige Untersuchungsergebnisse schon jetzt mitteilen zu müssen, nachdem vor kurzem eine Arbeit von Jones und Partridge²⁾ erschienen ist, welche in engstem Zusammenhang zu meinen Untersuchungen steht. Dieselben fanden nämlich, daß das Pankreas ein Enzym enthält, welches die Überführung von Guanin in Xanthin zustande bringen kann und dem sie den Namen «Guanase» gaben. Aus ihren früheren Arbeiten³⁾

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 251.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 343.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 35.

schließen sie, daß ein solches Enzym auch in der Thymusdrüse und in der Nebenniere existiert, jedoch nicht in der Milz. Weiterhin sprechen sie die Meinung aus, daß, da nach den Untersuchungen über die Selbstverdauung der Milz Adenin in Hypoxanthin übergeführt werden kann auch bei Abwesenheit von «Guanase», diese Überführung einem anderen Enzym (Adenase) zuzuschreiben sei, welches offenbar in der Thymus, der Nebenniere und dem Pankreas vorkomme.

Meine Untersuchungen führten mich zu denselben Fragen, indem ich die Zwischenstufen zu finden suchte, welche bei der Überführung der Aminopurine in Harnsäure entstehen müssen. Ich habe nun zwar inzwischen zahlreiche Organe auf ihre harnsäurebildende Fähigkeit hin untersucht; da ich jedoch mit der Milz meine Untersuchungen begann und aus ihr eine Isolierung des Fermentes mit Erfolg versucht hatte, so lag es mir am nächsten, mit ihrer Hilfe nach den Übergangsprodukten zu suchen. Zudem ergaben meine weiteren Erfahrungen, daß in der Milz die einfachsten Verhältnisse zur Entscheidung dieser Fragen zu finden sind, da ihr harnsäurebildendes Ferment sehr intensiv arbeitet und ihr keine harnsäurezerstörenden Fähigkeiten zukommen.

Zuerst beschäftigte ich mich mit der Isolierung des Fermentes und fand, wie schon bemerkt, daß sich dasselbe mit konzentrierter Ammonsulfatlösung aussalzen läßt. Nach Jakobys¹⁾ Angabe unterwarf ich einen wässerigen Milzauszug der fraktionierten Aussalzung, wobei sich ergab, daß die Fällung des Fermentes bei einem Sättigungsgrade von 66% am ausgiebigsten vor sich geht. Der dabei gewonnene Niederschlag wurde in Wasser (500—800 ccm) suspendiert, mit etwas Chloroform versetzt und das Ganze $\frac{1}{2}$ —1 Stunde in die Schüttelmaschine gebracht. Dann wurde solange gegen beständig fließendes Wasser dialysiert, bis kein Ammoniak mehr nachweisbar war, was meist 6—8 Tage erforderte. Nunmehr wurde filtriert und die so erhaltene leicht gelblichbraune Flüssigkeit direkt zu den Versuchen benutzt. Die auf diese Weise erhaltenen Fermentlösungen erwiesen sich stets als hochwirksam. Ihre Zusammen-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 136.

setzung wechselte in engen Grenzen. Um ein ungefähres Bild von derselben zu geben, teile ich die Analyse der zu den folgenden Versuchen benutzten Fermentlösung mit:

Auf 1000 Lösung kommen:

993,9 Wasser
 3,72 organische Substanz
 2,4 Ascherückstand
 0,77 Stickstoff.

Von Purinkörpern ist die Lösung so gut wie frei.

Die folgenden Versuche dienen als Beleg für die Wirksamkeit der Fermentlösung: die Versuchsanordnung und die Methode der Harnsäureisolierung habe ich in meiner letzten Arbeit ausführlich besprochen, weshalb ich auf eine Wiederholung verzichten kann.

Versuch I. 400 ccm Fermentlösung + 0,2 g Guanin (in Natronlauge gelöst zugesetzt) gehen unter Chloroformzusatz und bei ständiger Luftdurchleitung 3 Tage lang bei 43° im Wasserbade.

Erhalten **0,157 g** Harnsäure.

0,13 g verbrauchen 15,4 ccm $\frac{1}{5}$ Normal- H_2SO_4
 Verlangt für $C_5H_4N_4O_3$: 33,33% N
 Gefunden : 33,17% >

Mithin waren **70,4%** des zugegebenen Guanins als Harnsäure wiedergefunden.

Versuch II. 250 ccm Fermentlösung + 0,2 g Guanin analog angesetzt.

Erhalten **0,203 g** Harnsäure.

0,1224 g verbrauchen 14,5 ccm $\frac{1}{5}$ Normal- H_2SO_4
 Verlangt : 33,33% N
 Gefunden : 33,17% >

Es waren also **91,2%** des zugegebenen Guanins als Harnsäure wiedergefunden. Da aber im Filtrat der Harnsäure die Silberfällung keinen Basenniederschlag mehr hervorrief, so mußte alles Guanin, demnach **100%**, in Harnsäure umgesetzt worden sein.

Versuch III. 400 ccm Fermentlösung + 0,2 g Guanin analog angesetzt.

Erhalten **0,222 g** Harnsäure.¹⁾

0,12 g brauchen 28,54 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-HCl

Verlangt : 33,33% N

Gefunden: 33,30% »

Es waren demnach **99,5%** des zugegebenen Guanins als Harnsäure wiedergefunden. Auch hier wurde im Filtrat der Harnsäure keine Silberfällung mehr erzielt. Es muß demnach das Guanin quantitativ in Harnsäure umgesetzt worden sein.

Versuch IV. 350 ccm Fermentlösung + 0,2 g Hypoxanthin + 0,1 g Adenin natronalkalisch analog angesetzt.

Erhalten **0,33 g** U.

0,147 g verbrauchten 34,8 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-Salzsäure

Gefunden: 33,15% N

Verlangt : 33,33% »

Demnach wurden **89%** des angewandten Gemisches als Harnsäure wiedergefunden.

Übrigens gelingt es auch, wirksame Fermentlösungen durch Alkoholfällung zu erzielen, vorausgesetzt, daß rasch hintereinander gearbeitet wird.

Versuch V. 1200 ccm eines wässerigen Milzauszuges werden mit 1200 ccm Alkohol gefällt. Nach etwa einstündigem Stehen wird abfiltriert, der Niederschlag mit ca. 800 ccm Wasser 4 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur in der Schüttelmaschine geschüttelt. Vom Filtrat wird der Alkohol bei 40° auf dem Wasserbad abgedampft.

300 ccm davon + 0,2 g Guanin analog wie oben.

Erhalten **0,146 g** Harnsäure.

0,11 g verbrauchen 12,95 ccm $\frac{1}{5}$ Normal-H₂SO₄

Gefunden: 33,14% N.

¹⁾ Die angegebenen Harnsäuremengen geben die Zahlen, welche gefunden wurden, nachdem das ursprüngliche Produkt nach Horbaczewskis Vorschrift behandelt worden war (Diese Zeitschr., Bd. XVIII, S. 341). Dieselbe lautet dahin, daß je 0,1 g Substanz in 2,0 ccm konz. H₂SO₄ gelöst und dann mit dem vierfachen Volumen Wasser wieder gefällt wird. In meiner letzten Mitteilung (Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 255) ist ihre Angabe infolge eines Versehens bei der Korrektur unrichtig.

Es waren demnach **63,8%** des zugegebenen Guanins als Harnsäure wiedergefunden.

Man sieht aus dem Versuch, daß die auf diese Weise hergestellte Fermentlösung zwar wirksam ist, aber lange nicht in dem Maße, wie die durch Ammonsulfataussalzung gewonnene. Nach meinen Erfahrungen tritt die schädigende Wirkung des Alkohols um so stärker zutage, je länger derselbe mit dem Niederschlag zusammen bleibt. Es lag daher der Gedanke nahe, daß durch den Alkohol dem Fermente vielleicht eine alkohollösliche Komponente entzogen wird. Zahlreiche Versuche nach dieser Richtung ergaben jedoch ein absolut negatives Resultat. Durch diese Versuche ist also dargetan, daß aus der Milz eine relativ einfach zusammengesetzte Fermentlösung gewonnen werden kann, welche freie Purinbasen quantitativ in Harnsäure überzuführen imstande ist.

Die nächste Frage, welche sich erhob, war die: Ist diese Umwandlung der Purinbasen in Harnsäure durch ein einheitliches Ferment bewirkt oder arbeiten dabei mehrere Fermente mit? Diese Frage mußte gleichzeitig zu der Aufsuchung von Zwischenprodukten führen.

Wie schon oben bemerkt, bediente ich mich hierzu in erster Linie des Milzextraktes und versuchte festzustellen, wie sich die Dinge gestalten, wenn an Stelle der Luftdurchleitung ein längerer Aufenthalt des Gemisches im Brutschrank ohne permanente Sauerstoffzufuhr tritt.

Versuch VI. Von einem Wasserextrakt der Milz, welcher auf die in meiner ersten Mitteilung angegebenen Weise bereitet war, wurden 600 ccm mit 0,9 g in der berechneten Menge Normalnatronlauge gelösten Guanins vierzehn Tage lang unter Chloroformzusatz im Brutschrank bei einer Temperatur von 37° C. gehalten. Danach wurde die Mischung mit 15 ccm konzentrierter Schwefelsäure am Rückflußkühler 3 Stunden lang gekocht, dann mit Natronlauge alkalisch, mit Essigsäure wieder schwach sauer gemacht, kurz aufgeköcht und vom Eiweißniederschlag abfiltriert. Letzterer wurde noch zweimal mit leicht essigsauerm Wasser ausgeköcht. Aus den vereinigten Filtraten wurden mit ammoniakalischer Silberlösung die Purin-

basen ausgefällt. Der gut ausgewaschene und in ca. 800 ccm Wasser suspendierte Silberniederschlag wurde heiß mit Salzsäure zersetzt und salzsauer bis zum nächsten Tag stehen gelassen.

Die ausgefallene Harnsäure betrug **0,14 g** und war, wie sich beim Umkristallisieren nach Horbaczewski erwies, rein.

0,1076 g verbrauchten 25,63 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-HCl

Verlangt : 33,33% N

Gefunden: 33,34% „

Das Filtrat der Harnsäure wurde zur Trockene eingedampft, der Rückstand in Natronlauge gelöst, die Lösung mit Tierkohle entfärbt und mit Essigsäure neutralisiert und nunmehr eine nochmalige Silberfällung vorgenommen. Der mit Salzsäure zersetzte Niederschlag wurde zur Trockene eingedampft. Nach möglicher Beseitigung der überschüssigen Salzsäure wurde der Rückstand in ca. 120 ccm Wasser aufgeköcht und filtriert (Filtrat A, Filtrerrückstand B). Aus dem Filtrat A konnte weder Guanin, noch Epiguanin, noch Adenin gewonnen werden. Dagegen fiel beim Einengen auf ca. 30 ccm eine schollige Substanz aus. Nach 12stündigem Stehen im Eisschrank wurde abfiltriert. Der Rückstand betrug **0,26 g**. Nach den Angaben Krügers und Salomons ins Nitrat verwandelt wurden 0,28 g eines schweren Kristallpulvers, das aus Plättchen bestehende Drusen zeigte und einen absolut einheitlichen Eindruck machte, gewonnen. Es lag also zweifellos Xanthin vor. Das Nitrat wurde in freies Xanthin umgesetzt und das letztere bei 140° getrocknet.

0,1232 g Substanz erforderten 32,3 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-HCl

Verlangt für $C_5H_4N_4O_2$: 36,84% N

Gefunden : 36,71% „

Im Filtrat wurden mit der Silberfällung nur noch minimale Basenreste gefunden.

Der Filtrerrückstand B wurde mit verdünntem Ammoniak kurz erwärmt und vom Ungelösten abfiltriert. Das Ungelöste betrug **0,04 g** und gab intensive Murexidreaktion. Es lag also noch ein kleiner Rest Harnsäure vor.

Das Filtrat wurde auf wenige Kubikzentimeter eingeeengt.

Dabei fiel Xanthin in derben Krusten aus. Die Gesamtmenge betrug **0,51 g**. Dasselbe wurde über das salpetersaure Salz gereinigt und nach Trocknen bei 140° analysiert.

0,1418 g Substanz verbrauchten 37,15 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-HCl

Verlangt : 36,84% N

Gefunden : 36,68% »

Im Filtrat waren wiederum nur unbedeutende Basenreste vorhanden.

Bei diesem Versuch hatten sich demnach an Stelle der **0,9 g Guanin** gefunden **0,18 g Harnsäure** und **0,77 g Xanthin**.

Denselben Versuch habe ich nun des weiteren an einer Fermentlösung angestellt, welche nach der vorne angegebenen Weise mittels Aussalzens gewonnen worden war.

Versuch VII. 500 ccm Fermentlösung (von derselben Lösung, von welcher zu Versuch III genommen worden war) + 0,6 g in Normalnatronlauge gelösten Guanins werden sechs Tage lang unter Chloroformzusatz im Brutschrank bei einer Temperatur von 37° C. gehalten. Darnach wurde die Reaktionsflüssigkeit natronalkalisch kurz aufgeköcht, mit Essigsäure schwach angesäuert und vom spärlichen Eiweißniederschlag abfiltriert. Nach dem Erkalten wurde im Filtrat eine Silberfällung vorgenommen. Der nach einigen Stunden abfiltrierte und gut ausgewaschene Niederschlag wurde, in Wasser suspendiert, mit Salzsäure in der Wärme zersetzt und das Filtrat eingedampft. Der nach Möglichkeit von anhaftender Salzsäure befreite Rückstand wurde in verdünntem Ammoniak aufgeköcht und das Ganze über Nacht in den Eisschrank gestellt. Auf diese Weise gewann ich durch Filtration ein das Xanthin haltendes Filtrat und einen ungelösten Rückstand (Guanin).

Der ungelöste Rückstand wurde in Normalnatronlauge gelöst, filtriert und das Guanin aus der Lösung mit Essigsäure ausgefällt. Es fiel in rein weißer Farbe sofort aus. Nach mehrstündigem Stehen wurde filtriert. Das Filtrat gab keine Silberfällung mehr.

Die Menge des wiedergewonnenen Guanins betrug: **0,21 g**.

0,143 g Substanz verbrauchten 47,2 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-Salzsäure

Verlangt für $C_5H_5N_5O$: 46,35% N

Gefunden : 46,21% ,

Das ammoniakalische Filtrat wurde auf ca. 10 ccm eingeeengt, wobei alles Ammoniak abdampfte und das Xanthin in charakteristischer, blättriger Form sich abschied.

Die Menge des so gewonnenen Xanthins betrug **0,363 g**.

Die Substanz wurde in salpetersaures Salz umgewandelt, welches sehr rasch als schweres Kristallpulver zum Vorschein kam und die charakteristische Kristallform zeigte. Dasselbe wurde wieder ins freie Xanthin verwandelt, das letztere bei 140° getrocknet und analysiert.

0,163 g Substanz verbrauchten 42,75 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-Salzsäure

Verlangt für $C_5H_4N_4O_2$: 36,84% N

Gefunden : 36,72% ,

Es waren somit an Stelle der **0,6 g Guanin** gefunden worden **0,21 g Guanin** und **0,363 g Xanthin**.

Die Harnsäure, welche ich in Versuch VI neben dem Xanthin fand, verdankt ihre Entstehung zweifelsohne, mindestens teilweise, dem Umstand, daß die zerkleinerte Milz zur Darstellung des Wasserextraktes mehrere Stunden andauernd gerührt worden war, wobei bereits eine Harnsäurebildung stattfindet, wie ich mich auch sonst häufig überzeugen konnte.

Die Versuche haben also ergeben, daß in der Rindermilz ein isolierbares Ferment enthalten ist, welches im Thermostaten ohne Luftdurchleitung die Umwandlung von Guanin in Xanthin bewirkt, unter Luftdurchleitung jedoch an Stelle des Xanthins aus dem Guanin Harnsäure bildet. Es ist also ganz klar, daß der Weg der Harnsäurebildung aus Guanin über das Xanthin führt. 2-Amino-6-8 Dioxypurin habe ich, trotzdem besonders darauf gefahndet wurde, nicht auffinden können, und es ist also anzunehmen, daß dieser von Emil Fischer dargestellte Körper, welcher einzig noch neben dem Xanthin eine Übergangsstufe zur Harnsäure bilden könnte, durch das vorliegende Ferment jedenfalls nicht dargestellt wird.

Meine Versuche haben des weiteren ergeben, daß, so zutreffend und wichtig die Untersuchungen Jones' über die Bildung von Xanthin aus Guanin in der Thymusdrüse, dem Pankreas und der Nebenniere sind, seine Beobachtung betreffs der Milz nicht zutrifft, wonach dieselbe eine Ausnahmestellung einnehmen und diese Funktion nicht besitzen soll.

Meine weiteren Untersuchungen¹⁾ über die Harnsäurebildung in Organen resp. Organextrakten haben bis jetzt ergeben, daß eine solche statthat in der Leber, Milz, Lunge und im Muskel, während scheinbar keine Harnsäurebildung vor sich geht in der Thymusdrüse, dem Darm, dem Blut und der Niere. Trotzdem geht in der Thymusdrüse, wie Jones nachgewiesen hat und wovon ich mich selbst überzeugen konnte, der Übergang von Guanin in Xanthin glatt vonstatten. Des weiteren habe ich auch eine Xanthinbildung im Nierenextrakt beobachtet, wie folgender Versuch zeigt.

Versuch VIII. 500 ccm wässrigen Nierenextraktes + 0,5g in Natronlauge gelösten Guanins wurden 14 Tage unter Chloroformzusatz bei 37° im Thermostaten gehalten. Darnach wurde das Reaktionsgemisch analog dem Milzextraktversuch (Versuch V) weiter verarbeitet.

Auf diese Weise wurden schließlich **0,18 g Xanthin** isoliert.

0,0952 g Substanz verbrauchten 29,88 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-HCl
 Verlangt : 36,84% N
 Gefunden: 36,59% »

Guanin und die anderen Basen konnten nicht gefunden werden.

Es muß also angenommen werden, daß die Harnsäurebildung, welche auf ganz bestimmte Organe beschränkt ist, durch die Tätigkeit zweier Fermente zustande kommt, eines desamidierenden, welches die Überführung von Guanin in Xanthin und Adenin in Hypoxanthin ermöglicht, und eines lebhaft oxydierenden, welches Hypoxanthin zu Xanthin und Xan-

¹⁾ Eine ausführliche Mitteilung dieser Versuche erfolgt nach Abschluß derselben an anderer Stelle (Archiv f. klin. Med.).

thin wiederum zu Harnsäure umwandelt. Das desamidierende Ferment, welches für Guanin und Adenin jedenfalls dasselbe ist, sodaß eine Einzelbenennung als «Guanase» und «Adenase» nicht nötig erscheint, bis nicht das Gegenteil bewiesen wird, erfreut sich einer weiten Verbreitung im Tierkörper und scheint so ziemlich in jedem Organ vorhanden zu sein. Es stimmt diese Annahme überein mit den Untersuchungen Langs¹⁾ über die Desamidierung im Tierkörper, welcher ebenfalls die weite Verbreitung eines desamidierenden Vorganges im Organismus erwies. Das speziell harnsäurebildende, oxydierende Ferment jedoch scheint auf einzelne bestimmte Organe beschränkt zu sein. Es bedürfen jedoch diese Verhältnisse noch weiterer Untersuchungen, weshalb ich auf eine definitive Formulierung bis auf weiteres verzichte.

Wie steht es nun mit der Spaltung der Nucleoproteide resp. der Nucleinsäure, ist sie durch dieselben Fermente bedingt, welche die Überführung in Xanthin und in Harnsäure bewirken?

In meiner ersten Mitteilung konnte ich zeigen, daß der wässrige Extrakt von Leber und Milz imstande ist, aus α -thymonucleinsaurem Natrium unter Abspaltung der Purinbasen Harnsäure zu bilden, und aus der Tatsache, daß bei der Autolyse als Endprodukte Xanthin und Hypoxanthin gefunden wurden, ist zu schließen, daß die Nucleoproteide der Organe einer Spaltung unterzogen werden, wobei die Purinbasen frei werden und so zugänglich der Einwirkung des desamidierenden Fermentes. Es war daher sehr naheliegend, den Versuch zu machen, ob die Fermentlösung in isoliertem Zustande eine Spaltung der Nucleinsäure unter Auftreten von Harnsäure herbeizuführen vermag.

Versuch IX. 400 ccm Fermentlösung von der Portion, welche auch zu Versuch III und VII gedient hatte, wurden mit 2,0 nucleinsaurem Natrium, das vorher in Wasser gelöst war, versetzt und mit Natriumkarbonat leicht alkalisch gemacht. Das Gemisch wurde darauf 3 Tage lang unter Luftdurchleitung nach Chloroformzugabe bei 42° im Wasserbad digeriert.

¹⁾ S. Lang, Über Desamidierung im Tierkörper, Hofmeisters Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie 1904, Bd. V, S. 321.

Vor der Verarbeitung auf Harnsäure wurde die Lösung 3 Stunden lang mit 10 ccm konzentrierter Schwefelsäure am Rückflußkühler gekocht. Es fanden sich nur kleinste Spuren von Harnsäure vor. Dagegen konnte im Filtrat ein dicker Basenniederschlag mit ammoniakalischer Silberlösung erzielt werden.

Es war also nicht gelungen, mittels der Lösung isolierten Milzfermentes, welche ohne weiteres Guanin in Xanthin und Xanthin in Harnsäure überführte, eine Spaltung der α -Nucleinsäure zu erzielen, so daß die in ihr enthaltenen Purinbasen frei gemacht und in Harnsäure umgesetzt werden konnten; da dieser Vorgang mit einem wässrigen Milzextrakt, wie früher bewiesen, glatt durchgeführt werden kann, so muß in der isolierten Fermentlösung das treibende Agens fehlen. Es scheint mir demnach dieser Versuch, dem ich noch einen zweiten gleichlautenden beifügen könnte, dafür zu sprechen, daß außer dem desamidierenden und dem oxydierenden Fermente noch ein drittes Ferment in Tätigkeit treten muß, um aus Nucleinsäure durch Abspaltung der Basen Harnsäure zu bilden. Es muß eine Nuclease im engeren Sinne des Wortes geben, welche Nucleinsäure zu spalten vermag, so daß die darin enthaltenen Purinbasen in Freiheit gesetzt werden. Damit stellt sich also die Harnsäurebildung im tierischen Organismus als ein komplizierter Vorgang dar und es bedarf zweifelsohne dreier verschiedener Gewebsfermente, um deren Zustandekommen aus den an das Nucleinsäuremolekül gebundenen Purinbasen zu ermöglichen. Es wäre vielleicht auch denkbar, daß die Fermente durch den umständlichen Isolierungsprozeß derart abgeschwächt wurden, daß sie nicht mehr imstande sind, die schwierigere Aufgabe der Nucleinsäurespaltung durchzuführen, während die anderen Funktionen noch gehen. Es stände jedoch diese «Abschwächung des Fermentes» im Widerspruch zu dessen ausgezeichneten Wirkung bei der Harnsäurebildung, weshalb ich von dieser Annahme vorderhand absehen zu dürfen glaube.

Es bleibt mir nun nur noch übrig, in wenig Worten auf die harnsäurezerstörende Fähigkeit der Gewebe ein-

zugehen, welche ja früher schon von Wiener¹⁾ durch ausführliche Untersuchungen festgestellt und auch von Ascoli²⁾ gefunden wurde. Bei meinen Untersuchungen über die Harnsäurebildung mußte ich mich bald mit ihr intensiver beschäftigen, da es sich sofort zeigte, daß in einigen Organen offenbar die gebildete Harnsäure zum Teil alsbald wieder zerstört wurde und somit das gesuchte Resultat verschleiert blieb. Ich fand so, daß der Niere, Leber, dem Muskel und vielleicht dem Knochenmark harnsäurezerstörende Fähigkeiten zukommen, daß dieselben aber am ausgesprochensten der Niere angehören. Zum Beweis diene der folgende Versuch:

Versuch X. 400 ccm wässriger Nierenextrakt + 0,5 g in Normalnatronlauge gelöster Harnsäure werden wie die Guanin-Milz-Versuche 4 Tage lang unter Chloroformzusatz bei Luftdurchleitung im Wasserbad mit 42° C. Temperatur digeriert. Das Reaktionsgemisch wird hernach vor der weiteren Verarbeitung 3 Stunden lang, mit 10 ccm konzentrierter Schwefelsäure versetzt, am Rückflußkühler erwärmt. Das neutralisierte, vom Eiweißniederschlag befreite und erkaltete Gemisch wird mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt und wie gewöhnlich verfahren.

Es wurde von der zugegebenen Harnsäure nichts mehr wiedergefunden.

Es gelang mir inzwischen, auch dieses Ferment isoliert zu gewinnen; doch werde ich dazu erst nach Abschluß der darüber im Gang befindlichen Versuche näheres mitteilen.

Zum Schlusse will ich noch erwähnen, daß der wässrige Milzauszug imstande ist, auch methylierte Purine zu spalten, was daraus hervorgeht, daß ich bei Zugabe von Coffein, das sich mit der Kupfersulfat-Bisulfitmethode nicht fällen läßt, nach einiger Zeit Körper erhielt, welche mit eben dieser Methode sich isolieren ließen. Die Identifikation derselben steht noch aus.

¹⁾ H. Wiener, Über Zersetzung und Bildung der Harnsäure im Tierkörper, Archiv f. exp. Pathol. u. Pharmak., Bd. 42, S. 375.

²⁾ G. Ascoli, Über die Stellung der Leber im Nucleinstoffwechsel. Pflügers Archiv, Bd. 72, S. 340 (1898).