

# Die bei der Selbstverdauung des Pankreas auftretenden Nucleinbasen.

Von

Dr. Martin Schenck.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Marburg)  
(Der Redaktion zugegangen am 8. Dezember 1904.)

Das Ausgangsmaterial für meine Untersuchungen war von Herrn Dr. Lohmann in folgender Weise dargestellt worden. Lebendfrische Pankreasdrüsen von Schweinen und Rindern wurden fein gehackt, unter Chloroformwasser,<sup>1)</sup> dessen Menge so gewählt war, daß auf 1 kg Drüsensubstanz 2 kg Flüssigkeit kamen, bei Bruttemperatur gehalten, bis die Verdauungsflüssigkeit keine Biuretreaktion mehr gab. Die klare Verdauungsflüssigkeit wurde dann vom Bodensatz abgehebert, aufgeköcht, filtriert und zur Abscheidung des Tyrosins eingeeengt. Das auskristallisierte Tyrosin wurde abgesaugt, das neue Filtrat mit Barytwasser von den Phosphaten befreit, der überschüssige Baryt durch Kohlensäure entfernt. Die so erhaltene Flüssigkeit wurde nunmehr stark eingeeengt und die Nucleinbasen nach den Angaben von Kutscher vom Histidin, Arginin etc. abgetrennt. Zu diesem Zweck wurde sie mit Salpetersäure schwach angesäuert und mit 20%iger Silbernitratlösung ausgefällt. Die Fällung wurde nach einigen Tagen abgesaugt, unter starkes Ammoniak gebracht und so einige Wochen aufbewahrt. Dabei gingen nicht unbeträchtliche Mengen in Lösung, die aus den Silberverbindungen nicht bekannter Körper bestehen. Diese Zwischenfraktion ist bisher nicht näher untersucht worden, doch lassen sich aus ihr die in Lösung gegangenen Verbindungen von neuem durch annähernde Neutralisation mit Salpetersäure niederschlagen und auf diese Weise reinigen. Der ungelöste Rest wurde abgesaugt, zunächst mit Ammoniak, dann

<sup>1)</sup> Salkowski, Deutsche medicin. Wochenschr., 1888, Nr. 16.

mit Wasser ausgewaschen und mit überschüssiger Salzsäure zersetzt. Das Filtrat vom Chlorsilber war auf dem Wasserbade zur Trockene abgedampft worden. So war schließlich eine starkgefärbte kristallinische Masse hinterblieben, die in der Hauptsache aus den Chloriden der Nucleinbasen bestand. Dieselbe erhielt ich zur weiteren Verarbeitung.

Die Aufteilung geschah nach der Methode von Krüger und Salomon. Es wurde die Kristallmasse mit Wasser bei 40° digeriert, nach mehrstündigem Stehen von dem Ungelösten abfiltriert und auf diese Weise eine «Xanthinfraktion» und eine «Hypoxanthinfraktion» erhalten. Die Xanthinfraktion wurde nach Krüger und Salomon weiter behandelt. Es gelang jedoch nicht, aus ihr irgend einen kristallisierten Körper zu gewinnen, nur geringe Mengen braungefärbter Schmierer schieden sich aus.

Aus der Hypoxanthinfraktion entstand auf Zusatz von Ammoniak eine reichliche Fällung, die durch wiederholtes Lösen in Salzsäure und darauffolgendes Niederschlagen mittels Ammoniak gereinigt wurde. Die Ausbeute der auf diese Weise erhaltenen Base betrug ca. 10 g. Es wurde nunmehr die durch Ammoniak gefällte Masse nochmals in Salzsäure gelöst und mit wässrigem Natriumpikrat versetzt. Das ausgefallene Pikrat wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und zweimal aus heißem Wasser umkristallisiert. Eine Stickstoffbestimmung des so gereinigten und bei 110° getrockneten Pikrates ergab folgende Werte:

0,1244 g Substanz gaben 32,4 ccm N bei 14,5° C. und 731,4 mm Bar.

Berechnet für $C_5H_5N_5O \cdot C_6H_2(NO_3)_2OH$	Gefunden
29,53%	29,76%

Beim Erhitzen verhielt sich das Salz genau so, wie von Wulff<sup>1)</sup> für das Guaninpikrat beschrieben. Bei 190° begann es unter Braunfärbung sich zu zersetzen und verkohlte dann bei weiterem Steigern der Temperatur allmählich.

Es lag demnach Guaninpikrat vor.

Das Filtrat der durch Ammoniak hervorgerufenen ersten Fällung wurde durch Erhitzen vom Ammoniak befreit und mit

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XVII, S. 480.



wässriger Pikrinsäurelösung behandelt. Es schieden sich alsbald geringe Mengen einer gelbgefärbten kristallinen Verbindung ab, die jedoch in Alkohol leicht löslich war und, wie eine Analyse ergab, hauptsächlich aus freier Pikrinsäure bestand. Das Filtrat der Pikrinsäurefällung wurde nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure durch Toluol von der Pikrinsäure befreit und nunmehr mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt. Aus dem Niederschlag wurde durch  $H_2S$  das Silber entfernt, das Filtrat vom Schwefelsilber zur Trockene verdampft. Aus der heißen Lösung des Rückstandes in verdünnter Salpetersäure schied sich beim Erkalten eine kristallinische Verbindung aus, die Hypoxanthinnitrat sein mußte. Eine Analyse der durch Ammoniak erhaltenen und bei  $100^\circ$  getrockneten freien Base ergab folgende Werte:

0.1158 g Substanz gaben 41,3 cem N bei  $15^\circ$  und 738,5 mm Bar.

Berechnet für  $C_5H_4N_4O$

N = 41,2%

Gefunden

N = 41,1%

und bestätigte die Vermutung, daß es sich um Hypoxanthin handele. Die Ausbeute an dieser Base hatte ca. 3 g betragen.

Aus dem Filtrat vom salpetersauren Hypoxanthin ließ sich durch Ammoniak und Silbernitrat noch eine geringe Menge eines Silbersalzes niederschlagen, welches, einmal aus verdünnter Salpetersäure umkristallisiert, sich der Hauptsache nach aus Hypoxanthinsilbernitrat bestehend erwies.

Es hatten sich demnach aus der Verdauungsflüssigkeit an Alloxurbasen nur Guanin und Hypoxanthin isolieren lassen, während Xanthin und Adenin, wenn überhaupt, jedenfalls nur in Spuren vorhanden waren.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Kutscher (Die Endprodukte der Trypsinverdauung, Habilitationsschrift, Straßburg, Trübner, 1899) fand bei seinen Verdauungsversuchen Guanin, Adenin, Hypoxanthin und Xanthin. Da jedoch das Ausgangsmaterial Kutschers (nach Kühne-Chittenden dargestelltes Trockenpankreas) ein anderes war wie das von mir benutzte, seine Versuche auch von vornherein nicht auf eine quantitative Bestimmung der Nucleinbasen gerichtet, deren Isolierung vielmehr Nebenbefund war, so lassen sich die Abweichungen obigen Versuchs von den Resultaten Kutschers leicht erklären. Es ist sehr wohl möglich, daß durch die zur Darstellung des Trockenpankreas erforderlichen Manipulationen eine Ver-

In jüngster Zeit ist nun von Jones und Partridge<sup>1)</sup> im Pankreas das Vorkommen eines Enzyms behauptet worden, das die Überführung von Guanin in Xanthin zustande bringen soll und dem sie den Namen «Guanase» gegeben haben. Ein zweites Enzym, die sog. «Adenase», soll die Überführung von Adenin in Hypoxanthin bewirken.

In Übereinstimmung hiermit hat Levene<sup>2)</sup> bei Vergleichung der durch Schwefelsäurespaltung erhaltenen Purinbasen aus frischer Pankreasdrüse mit denen aus selbstverdauter gefunden, daß im ersteren Falle neben Spuren von Hypoxanthin und Xanthin hauptsächlich Adenin und Guanin vorhanden waren, während nach der Autolyse sich kein Adenin mehr nachweisen ließ, Guanin noch in geringer Menge, vorwiegend aber Xanthin und Hypoxanthin gewonnen wurden. Auch in anderen Organen, wie Thymus und Nebenniere, sind nach Jones und Partridge Fermente vorhanden, die Guanin in Xanthin, Adenin in Hypoxanthin, ferner Hypoxanthin in Xanthin überführen, während die Milz nur ein Adenin in Hypoxanthin umwandelndes Enzym besitzen soll.

Nach Schittenhelm<sup>3)</sup> findet sich indessen auch in der Milz ein Ferment, das Guanin in Xanthin überführt (Guanase) und das er für identisch mit der Adenase hält, sowie ein zweites, welches Hypoxanthin zu Xanthin und Xanthin zu Harnsäure umwandelt.

Das von mir erhaltene Resultat stimmt also teilweise mit den Angaben der genannten Autoren überein, insofern als kein Adenin, dagegen reichlich Hypoxanthin aufgefunden wurde: die Überführung von Guanin in Xanthin habe ich aber nicht bestätigen können. Es ließe sich diese Abweichung erklären, wenn man annimmt, daß Adenase und Guanase zwei verschiedene Fermente sind und im vorliegenden Verdauungsversuche die Guanase gefehlt habe.

nichtung bzw. Schädigung der auf die Alloxurbasen weiter einwirkenden Fermente erfolgt ist. Bekanntlich wird ja auch das Trypsin durch eine derartige Behandlung in seiner Wirksamkeit geschwächt, das Steapsin sogar vernichtet.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 343.

<sup>2)</sup> The American Journal of Physiology, Vol. XI, p. 276.

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLIII, S. 228.