

# Der Nucleinstoffwechsel und seine Fermente bei Mensch und Tier.

Von

**Alfred Schittenhelm.**

(Aus dem Laboratorium der medizinischen Klinik zu Göttingen.)

(Der Redaktion zugegangen am 19. Oktober 1905.)

In verschiedenen Arbeiten<sup>1)</sup> habe ich nachgewiesen, daß in sämtlichen daraufhin untersuchten Organen des Rindes ein hydrolysierendes Ferment die Umwandlung der Aminopurine in Oxypurine bewirkt, daß unter diesen wieder einige ein oxydierendes Ferment enthalten, welches die Oxypurine zu Harnsäure umsetzt, und daß endlich in einigen wenigen Organen ein uricolytisches Ferment existiert, ein Ferment also, das die neugebildete Harnsäure sofort weiterzerlegt. Zu allen meinen Versuchen benutzte ich nur die Organe einer Tierart, des Rindes, weil mir aus den mannigfach gemachten Beobachtungen, daß wesentliche Unterschiede bestehen im Abbau der Purinkörper, vor allem der Methylpurine bei verschiedenen Tiergattungen<sup>2)</sup> (Salkowski, Krüger, Burian und Schur, Nicolaiers Befund von 6 Amino-2-8-Dioxypurin bei Ratten nach Adeninverabreichung u. a.) ohne weiteres hervorzugehen schien, daß eine Versuchsreihe nur dann vergleichbare Resultate liefern kann, wenn möglichst einheitlich vorgegangen wird. Daß ein Wechsel mit der Tierart sofort zu abweichenden Resultaten führen kann, hatte ich selbst schon lange zu beobachten Gelegenheit gehabt, indem es mir wohl gelang, bei Verwendung von Hundemilz zu den Versuchen Oxypurine zu erhalten,

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, 1905, Bd. XLV, S. 121—161; 1904, Bd. XLIII, S. 228 und Bd. XLII, S. 251.

<sup>2)</sup> Ich habe auf diesen Punkt von Anfang an hingewiesen, vergl. Zentralbl. f. Stoffw.- u. Verdauungskr. 1904, Nr. 9, S. 226 und Diese Zeitschrift, Bd. XLV, S. 148.

nicht aber eine Oxydation zu Harnsäure durchzuführen. Es bestand also ein grober Unterschied zwischen meinen Versuchen mit Rinder- und Hundemilz, indem erstere bei Zufuhr von Sauerstoff aus Purinbasen quantitativ Harnsäure bildet, während letztere dafür als unfähig sich erwies. Die Umwandlung der Aminopurine in Oxypurine dagegen hatten beide gemeinsam. Ich dachte auf diese Unterschiede später ausführlich zurückzukommen, indem ich, nach Feststellung der Verhältnisse für das Rind, die Versuche nach ganz derselben Anordnung auch für andere Tierarten durchzuführen vor hatte.

Diese geplanten Untersuchungen erfuhren einen Aufschub dadurch, daß Jones und seine Mitarbeiter<sup>1)</sup> zu anderen Resultaten gelangten, wie ich, indem sie zwar für Thymus, Nebenniere und Pankreas ebenfalls die Umwandlung der Aminopurine in Oxypurine feststellten, dagegen fanden, daß in Leber und Milz das Guanin in Xanthin umwandelnde Ferment («Guanase» von Jones) fehle, das Adenin in Hypoxanthin umsetzende («Adenase» von Jones) aber vorhanden sei. Da Jones und seine Mitarbeiter der Reihe nach Thymus, Nebenniere, Milz, Leber usw. benutzten ohne weitere Angabe der Tierart, so nahm ich selbstredend an, daß sie mit derselben nicht wechselten, da nach obigen Darlegungen eine solche Versuchsänderung von vornherein leicht unübersehbare Differenzen herbeiführen konnte. Ich war also in Anbetracht des Umstands, daß sie zunächst mit Thymus arbeiteten, der Meinung, daß auch sie stets Rinderorgane verwandt hatten, und mußte daher in erster Linie daran gehen, ihre Resultate zu widerlegen. Auf Grund mühevoller und zeitraubender Versuche<sup>2)</sup> habe ich dies auch ausgeführt.

Nunmehr kommt Jones<sup>3)</sup> gleichzeitig mit meinen Veröffentlichungen mit der Mitteilung heraus, daß er nur mit Milz vom Schweine gearbeitet habe. Er bestätigt meinen Befund mit Rindermilz, stellt aber nochmals fest, daß die Schweinemilz nicht die leiseste Spur des Guanin in Xanthin um-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 35 und 343; Bd. XLIV, S. 1.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLV, S. 152.

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLV, S. 84.

wandelnden Fermentes enthalte. Darnach stehe es fest, daß «Guanase» und «Adenase» verschiedene Fermente seien.

Ich habe auf Grund meiner Befunde an Rinderorganen angenommen, daß die Umsetzung der Aminopurine zu Oxy-purinen ein und dasselbe hydrolytische Ferment bewirke und daß es nicht notwendig ist, zwei verschiedene Fermente anzunehmen. Ich stehe also in diesem Punkt zu Jones im strikten Gegensatz.

Jones meint nun diese meine Ansicht durch seine Befunde widerlegt zu haben, was jedoch keineswegs der Fall ist. Denn ebensowenig, wie man Resultate, welche man für den Nucleinstoffwechsel einer bestimmten Tierart — sagen wir Hund — gefunden hat, ohne weiteres der Beurteilung desselben Stoffwechsels einer anderen Tierart, z. B. des Rindes, zugrunde legen darf, ebenso wenig darf man meines Erachtens ohne strikteren Beweis annehmen, daß die den Nucleinstoffwechsel auslösenden Momente, die Fermente, gleicher Natur und gleicher Funktion und somit ohne weiteres vergleichbar sind. Jones dürfte seine Behauptung von der Verschiedenheit der «Guanase» und der «Adenase» also nur für die Milz des Schweines aufstellen, mit der er bis jetzt allein entsprechende Versuche angestellt hat. Auf die Leber, für welche er früher analoge Verhältnisse angab, geht er in seiner letzten Arbeit nicht ein und verrät auch nicht, welchem Tier er dieselbe zu seinen Versuchen entnommen hatte. Ich habe also nicht nötig, auf seine Befunde an der Leber näher einzugehen, da ich auf Grund der besprochenen Verhältnisse Mitteilungen von Versuchen über den Nucleinstoffwechsel so lange für unverwertbar und wertlos halte, als ihnen die nähere Bezeichnung der Tierart fehlt, an welcher sie angestellt sind.

Wenn ich nun auch mit den Folgerungen von Jones mich nicht für einverstanden erkläre, so kann ich doch nicht umhin, seinen Befund vom abweichenden Verhalten der Rinder- und der Schweinemilz für einen recht interessanten zu halten.

Von Haus aus ist es keineswegs erstaunlich, daß Organextrakte vom Schweine sich dem Guanin gegenüber anders verhalten, wie solche vom Rinde. Denn wir wissen schon seit

Virchow, daß das Schwein in diesem Punkt unter gewissen Umständen eine Ausnahmestellung einzunehmen vermag. Virchow stellte nämlich das Vorkommen einer Guaningicht beim Schweine fest, welche analog der menschlichen Gicht in kristallinen Ablagerungen innerhalb der Gewebe besteht, die aber nicht Harnsäure, sondern Guanin darstellen. Es weist dies auf eine Störung im Guaninumsatze hin. Ein weiterer Beweis hierfür wurde von Pecile<sup>1)</sup> erbracht, welcher aus dem Urin eines solchen gichtkranken Schweines neben Xanthin Guanin in erheblicher Menge isolieren konnte, während sein Suchen nach Harnsäure vergeblich war. Allerdings vermochte er nur die Tatsache selbst festzustellen, ohne daraus Schlüsse ziehen zu können, da ihm die Kenntnis der Purinkörper des normalen Schweineurins fehlte. Untersuchungen, welche inzwischen von Bendix und mir<sup>2)</sup> angestellt sind, ergaben für den normalen Schweineurin das Vorhandensein von Harnsäure in relativ reichlicher Menge und von Purinbasen, unter denen jedoch bis jetzt Guanin nur in Spuren, dagegen eine beträchtliche Menge Xanthin sich auffinden ließ. Es besteht also scheinbar ein Unterschied zwischen dem gichtkranken und dem normalen Schwein, ein Umstand, der großes Interesse beansprucht und von dessen weiterer Erforschung, mit der wir uns abgeben werden, wichtige Resultate für die Physiologie und Pathologie des Nucleinstoffwechsels zu erwarten sind.

Für die vorliegende Frage läßt sich aus dem Auftreten beträchtlicher Xanthin- und Harnsäuremengen neben normalen Quantitäten Guanin im normalen Schweineurin schließen, daß im normalen Schweineorganismus die Umsetzung des Guanins zu Xanthin und zu Harnsäure vor sich geht, und es setzt dieser Befund voraus, daß normalerweise ähnliche fermentative Vorgänge ablaufen müssen, wie z. B. beim Rinde. Es harmonieren also die Resultate von Jones mit diesen Befunden und Überlegungen nicht und es ergab sich daher für mich die Notwendigkeit, selbst einige Untersuchungen mit Schweineorganen anzustellen.

<sup>1)</sup> Annal. der Chem., 1876, Bd. CLXXXIII, S. 141.

<sup>2)</sup> Dieselben werden für sich in dieser Zeitschrift ausführlich publiziert.

## I. Versuche mit Schweinemilz.

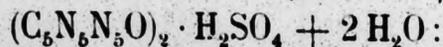
Zunächst schien es mir notwendig, zu untersuchen, welche Purinkörper sich in der frischen Schweinemilz präformiert vorfinden.

Zu diesem Versuche wurden sechs Milzen im Gesamtgewicht von 650 g fein zerkleinert, in einigen Litern 2%iger Schwefelsäure suspendiert und fünf Stunden am Rückflußkühler gekocht. Hierauf wurde, wie üblich, enteiweißt und aus dem Filtrat die Purinkörper durch mehrmals wiederholte Kupfersulfat-Bisulfidfällung rein dargestellt. Die Isolierung der einzelnen Basen geschah nach Krüger und Schittenhelm.<sup>1)</sup> Gefunden wurden zunächst

**0,7 g Guanin.**

Dieselben wurden als Sulfat analysiert:

0,1588 g verloren bei 130° 0,013 g H<sub>2</sub>O  
und verbrauchten nach Kjeldahl 36,32 ccm  $\frac{1}{10}$ -Normalsalzsäure.



Verl.: 8,26% H<sub>2</sub>O und 32,11% N

Gef.: 8,18%     >     >     32,01%     >

Aus dem Filtrat wurden

**1,95 g Adeninpicrat**

isoliert; umkristallisiert und gereinigt zeigte das Präparat die bekannte Kristallform und erwies sich durch seinen Schmelzpunkt, der bei 281° lag, als rein.

Im Filtrat davon konnte durch Kupferfällung noch eine geringe Menge Basen gefunden werden, welche jedoch nicht ganz 0,1 g betrug und zur genaueren Identifikation natürlich nicht ausreichte.

Die frische Milz des normalen Schweines<sup>2)</sup> enthält also an Purinbasen vornehmlich Guanin und Adenin und höchstens Spuren von Xanthin und Hypoxanthin.

Bei der Extraktion des Organes mit Wasser, um eine wirksame Fermentlösung zu erhalten, gehen immerhin nicht unbeträchtliche Mengen von Purinbasen in Lösung. Dieselben

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXXV, S. 153.

<sup>2)</sup> Die frische Milz des normalen Rindes enthält ebenfalls im wesentlichen Guanin und Adenin und nur geringe Mengen von Oxypurinen.

befinden sich in dem Extrakt in gebundener Form, was daraus hervorgeht, daß sie, nach vorhergehender Enteiweißung, erst der Fällung zugänglich sind, nachdem die Bindung durch Kochen in schwefelsaurer Lösung gesprengt ist. Bei einem Versuch ergab sich die Menge des in 500 ccm Schweinemilzextrakt vorhandenen Purinbasenstickstoffs = **0,048 g.**

Es gelingt jedoch, eine Lösung der organischen Bindung auch dadurch herbeizuführen, daß der Extrakt drei Tage lang bei 37° unter ständiger Luftdurchleitung bei peinlicher Konservierung digeriert wird. Ein entsprechender Versuch ergab, daß dabei aus 500 ccm Extrakt eine Menge Purinbasen frei wurde, welche 0,046 g Stickstoff entspricht. Es wurde also offenbar so ziemlich die ganze Menge der in ihm enthaltenen gebundenen Purinbasen in Freiheit gesetzt.

Daraus geht hervor, daß auch in der Schweinemilz, wie ich für die Rindermilz bereits früher erwiesen habe, eine Nuclease in engerem Sinne enthalten sein muß, welche die Nucleine spaltet und die Purinbasen in Freiheit setzt.

Ehe ich zu weiteren Versuchen überging, untersuchte ich zunächst den Milzextrakt auf seine Fähigkeit, Harnsäure zu zerstören. Dabei wurden je 450 ccm des Extraktes, dem 0,35 g Harnsäure in gelöster, natronalkalischer Form zugegeben waren, 3 Tage lang bei 37° unter Luftdurchleitung digeriert. In zwei Versuchen gewann ich das eine Mal 91,4, das andere Mal 97% der zugegebenen Harnsäure wieder. Es geht daraus hervor, daß der Schweinemilz, sowenig wie der Rindermilz, ein Harnsäurezerstörungsvermögen zukommt.

Nach diesen Feststellungen konnte ich an die Frage herantreten, ob die Schweinemilz aus Purinbasen ebenso prompt Harnsäure zu bilden vermag, wie die Milz des Rindes. Meine Versuchsanordnung war dieselbe, welche ich immer anwandte.

Versuch: 400 ccm Schweinemilzextrakt, mit 0,3 g in Normalnatronlauge gelösten Guanins versetzt, gingen drei Tage lang unter Luftdurchleitung bei 37°.

Es fand sich keine Spur Harnsäure.

Einige weitere Versuche, die analog verliefen, bestätigten das Resultat und ebenso wenig konnte bei Zugabe von Adenin

Harnsäure erhalten werden. Es war hiermit festgestellt, daß die Milz des Schweines nicht imstande ist, aus Purinbasen Harnsäure zu bilden, wenigstens nicht unter den Bedingungen, unter welchen Rindermilz diese Fähigkeit entfaltet. Da bei dieser Versuchsanordnung freie und gebundene Purinbasen der postulierten Fermentwirkung ausgesetzt waren, so erwies sich gleichzeitig die chemische Form der dargereichten Purinbasen als einflußlos.

Die folgenden Untersuchungen beschäftigen sich mit der Frage, was wird aus den zugegebenen freien und den durch die oben erwiesene Nuclease freigemachten Aminopurinen?

#### A. Versuch mit Luftdurchleitung ohne Purinbasenzusatz.

Bei diesem und bei dem nächsten Versuche, welche beide unter Luftdurchleitung bei Brutschranktemperatur ( $37^{\circ}$ ) angestellt sind, kam es in erster Linie darauf an, jede auch nur geringste Fäulnis auszuschließen, da ja bekanntlich unter dem Einfluß von Fäulnisbakterien die Aminopurine in Oxypurine umgewandelt werden (Schindler, Schittenhelm und Schröter u. a.). Ich leitete daher die Luft vor dem Eintritt in das Reaktionsgemisch durch eine mit Chloroform gefüllte Flasche, sodaß zugleich mit der Luft permanent Chloroformdämpfe durch das Versuchsgemisch zogen, welche jede Fäulnis ausschlossen. Es bedarf noch der Erwähnung, daß nie die ganze Versuchsmenge sich in einer Flasche befand, sondern daß dieselbe in zahlreiche Flaschen, welche hintereinander geschaltet waren, verteilt war, deren einzelne nie mehr wie 450—500 ccm Versuchsgemisch enthielt.

Auf diese Weise wurden zunächst 7 Portionen Schweinemilzextrakt à 450 ccm<sup>1)</sup> drei Tage lang ohne Zusatz von Purinbasen dem Versuch unterworfen.

Nach Abbruch des Versuchs wurde enteweißt und die Basen durch die Kupfersulfatbisulfitmethode isoliert. Nach Zerlegung der Kupferoxydulverbindungen durch Schwefelwasserstoff

<sup>1)</sup> Die Extrakte wurden so dargestellt, daß auf 1 Teil des frischen Organs etwa  $2\frac{1}{2}$  bis 3 Teile Wasser kamen. Im übrigen wurde verfahren, wie früher beschrieben.

wurde im eingeeengten Filtrat zur Reinigung nochmals eine Kupferfällung vorgenommen. Die Endlösung, welche die durch  $\text{H}_2\text{S}$  wieder freigemachten Purinbasen enthielt, wurde zur Vertreibung alles überschüssigen  $\text{H}_2\text{S}$  eingeeengt und dann mit Ammoniak versetzt. Darnach blieb auch nach 24stündigem Stehen im Eisschrank alles gelöst. Mithin war Guanin in nachweisbarer Menge sicher nicht vorhanden.

Die Lösung wurde nach Abdampfen des Ammoniaks salzsauer zur Trockene eingedampft und der Rückstand nach Krüger und Salomon behandelt.

Das Ungelöste löste sich glatt in Ammoniak und erwies sich als Xanthin, von welchem **0,3 g** isoliert wurden. Über das Nitrat gereinigt, ergab es folgende Analyse:

0,172 g verbrauchten 45,1 ccm  $\frac{1}{10}$ -Normalsalzsäure  
Verlangt für  $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_2$ : 36,84% N  
Gefunden: 36,71% N.

Das Gelöste gab mit Natriumpikrat keine Fällung, wodurch das Vorhandensein bemerkenswerter Mengen Adenin ausgeschlossen ist. Dagegen konnten

**0,42 g Hypoxanthin**

isoliert werden. Dasselbe gab als Nitrat die typische Kristallform. Das Nitrat wurde in wenig Wasser gelöst und mit  $\text{NH}_3$  neutralisiert, wodurch freies Hypoxanthin in reinem Zustand erhalten wurde. Dasselbe wurde bei  $110^\circ$  getrocknet.

0,171 g verbrauchten 49,9 ccm  $\frac{1}{10}$ -Normalsalzsäure  
Verlangt für  $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}$ : 41,18% N  
Gefunden: 40,85% N.

Als Endprodukte der Autodigestion waren demnach Hypoxanthin und Xanthin gefunden worden.

**B. Versuch mit Luftdurchleitung und Guaninzusatz.**

**10 Portionen à 450 ccm** Schweinemilzextrakt, von denen zu jeder **0,35 g** Guanin in wenig Normalnatronlauge gelöst zugegeben wurden, gingen drei Tage lang, wie oben beschrieben.

Die Isolierung der Purinbasen geschah nach Abbruch des Versuchs, wie mehrfach beschrieben.

Dabei wurden zunächst **2,1 g** Guanin wiedergewonnen, welche als salzsaures Salz analysiert wurden.

0,2060 g verloren bei  $130^{\circ}$  0,0168 g  $H_2$   
und verbrauchten 46,8 ccm  $\frac{1}{10}$ -Normalsalzsäure

Verlangt: 8,26%  $H_2O$  und 32,11% N

Gefunden: 8,15%                      31,80%                      »

Das ammoniakalische Filtrat der Guaninfällung wurde nochmals nach Vertreibung des Ammoniaks mit Kupfersulfatbisulfit gefällt und die gewaschenen Kupferoxydulverbindungen mit  $H_2S$  zerlegt. Das Filtrat wurde salzsauer zur Trockene eingedampft und der Rückstand nach Krüger und Salomon weiter behandelt.

Das Ungelöste erwies sich als Xanthin. Die Menge war **0,38 g**. Es wurde über das Nitrat, welches die verlangte Kristallform zeigte, gereinigt und das so erhaltene reine Xanthin bei  $130^{\circ}$  getrocknet.

0,15 g Substanz verbrauchten 39,0  $\frac{1}{10}$ -Normal-HCl

Verlangt: 36,84% N

Gefunden: 36,40% N.

Das Gelöste betrug eingedampft 1,1 g Trockensubstanz: in 200 ccm  $H_2O$  gelöst gab es mit Natriumpikrat keine Fällung; es war also kein Adenin vorhanden. Nach Entfernung der Pikrinsäure durch Ansäuern mit  $H_2SO_4$  und Ausschütteln mit Toluol wurden die Basen nochmals als Kupferverbindungen isoliert und diese mit  $H_2S$  zerlegt. Das Filtrat wurde zur Trockene eingedampft. Der nunmehrige Trockenrückstand betrug **0,6 g**.

Die Substanz wurde nunmehr langsam in heiße 10%ige Salpetersäure eingetragen, worin sie sich vollkommen löste. Beim langsamen Erkalten kamen in großer Menge ausgebildete, nadelförmige, zu strohbüschelartigen und kugligen Gebilden vereinigte Kristalle zum Vorschein, deren Menge 0,8 g betrug. Das Präparat machte einen durchaus einheitlichen Eindruck.

Das Nitrat wurde in wenig Wasser heiß gelöst, filtriert und mit Ammoniak neutralisiert, wonach sofort ein dicker Niederschlag entstand. Derselbe war kristallinisch und bestand aus kleinen, teilweise zu Büscheln zusammengelegten Nadelchen. Die Menge betrug ca. 0,4 g.

Das Produkt gab keine Murexidprobe; dagegen trat bei Zugabe eines Tropfens Natronlauge auf den beim Abdampfen mit konzentrierter Salpetersäure erhaltenen Rückstand intensive Purpurrotfärbung ein, welche allmählich in Violett überging, ähnlich der Guaninreaktion.

Die Farbenreaktion legte es nahe, daß kein Hypoxanthin vorlag, für welches auch die beschriebene Kristallform des Nitrats und der freien Substanz nicht stimmten. Auch das Verhalten des Körpers gegen Ammoniak sprach gegen Hypoxanthin. Es war nämlich selbst in heißem  $\text{NH}_3$  nur schwer löslich.

Da Guanin und Xanthin, welche ja bereits aus dem Gemisch entfernt waren, nicht mehr in Frage kamen, so lag es nahe, daran zu denken, ob nicht in der Substanz das von Emil Fischer<sup>1)</sup> bereits synthetisch dargestellte Oxydationsprodukt des Guanins, das 2-Amino-6-8-Dioxypurin, vorlag. Es wurden daher mit derselben noch einige von Fischer für das 2-Amino-6-8-Dioxypurin angegebene Reaktionen angestellt.

Die Verbindung zersetzte sich ganz allmählich von  $375^\circ$  an, ohne zu schmelzen; bei  $390^\circ$  war alles zersetzt. Eine Probe wurde in Schwefelsäure (1 Vol.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  und 1 Vol.  $\text{H}_2\text{O}$ ) unter Erwärmen gelöst; beim langsamen Erkalten schieden sich mikroskopisch kleine, vierseitige Täfelchen ab. Eine weitere Probe, in viel  $\text{NH}_3$  gelöst, gab beim Zufügen von  $\text{AgNO}_3$  zur Lösung bald eine schwarze Fällung.

Zur Analyse wurde das Produkt bei  $120-130^\circ$  getrocknet.

1. 0,15 g verbrauchten 44,8 ccm Normalsalzsäure

2. 0,1392 g ergaben 48,4 ccm N ( $13^\circ$ ; 762 mm)

Verlangt für  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_5\text{O}_2$ : 41,9% N

Gefunden: 1. 41,81% >

2. 41,2% >

Auch der Stickstoffgehalt der Verbindung spricht demnach, ebenso wie sein Zersetzungspunkt und die Löslichkeitsverhältnisse etc. für das Vorliegen von 2-Amino-6-8-Dioxypurin. Immerhin halte ich aber eine Wiederholung des Versuches, welche ich mir für später vorbehalte, nachdem sie mir zurzeit aus äußeren Gründen leider nicht mehr möglich

<sup>1)</sup> Ber. der Deutsch. chem. Ges., 1897, Bd. XXX, S. 571.

war, für absolut notwendig, sowie die Anstellung weiterer Analysen, zu welchen meine Substanzmenge nicht hinreichte.

Am Filtrat der Substanz konnte mit ammoniakalischer Silbernitratlösung noch eine Fällung (Hypoxanthin?) erzielt werden, auf deren weitere Verarbeitung jedoch verzichtet wurde.

### C. Versuch ohne Luftdurchleitung mit Guaninzusatz.

**900** ccm Schweinemilzextrakt wurden mit **1 g** Guanin, das in 11 ccm Normalnatronlauge gelöst war, versetzt und nach Zusatz von Chloroform und Toluol 23 Tage lang gut verkorkt im Brutschrank bei  $37^{\circ}$  aufbewahrt: dabei wurde das Gemisch täglich durchgeschüttelt.

Nach Abbruch des Versuches wurden die Purinbasen, wie gewöhnlich, isoliert. Es wurden wiedererhalten

**0,43 g** Guanin.

Dasselbe wurde über das Sulfat gereinigt und das reine Endprodukt bei  $120^{\circ}$  getrocknet.

0,132 g verbrauchten 43,2 ccm  $\frac{1}{10}$ -Normal-HCl

Verlangt: 46,35% N

Gefunden: 45,83% N.

Aus dem Filtrat wurden

**0,4 g** Xanthin isoliert.

Dasselbe wurde über das Nitrat, welches die typische Kristallform zeigte, gereinigt und das Endprodukt bei  $140^{\circ}$  getrocknet.

0,15 g verbrauchten 39,5 ccm  $\frac{1}{10}$ -Normalsalzsäure

Verlangt: 36,84% N

Gefunden: 36,87% N.

Aus dem Filtrat konnte noch eine Silberfällung, welche offenbar aus Hypoxanthin bestand, erhalten werden.

### D. Versuch ohne Luftdurchleitung mit Adeninzusatz.

**900** ccm Schweinemilzextrakt wurden mit **0,7 g** Adenin, welche in 7,5 ccm Normalnatronlauge gelöst waren, versetzt und 14 Tage lang im Brutschrank bei  $37^{\circ}$  unter Chloroform und Toluol aufbewahrt.

Nach Abschluß des Versuches wurden zunächst **0,15 g** Xanthin isoliert.

Adenin konnte nicht mehr nachgewiesen werden; dagegen fanden sich

**0,5 g Hypoxanthin.**

Diese wurden über das Nitrat, welches die verlangte Kristallform zeigte, gereinigt und das Endprodukt bei 110° getrocknet.

0,1872 g verbrauchten 54,8 ccm  $\frac{1}{10}$ -Normalsalzsäure

Verlangt für  $C_5H_4N_4O$ : 41,17% N

Gefunden: 40,98% N.

Aus den vier letzten Versuchen geht hervor, daß im Schweinemilzextrakt, ebenso wie im Rindermilzextrakt, ein hydrolytisch wirkendes Ferment enthalten sein muß, welches aus den Aminopurinen Oxypurine darstellt. Dabei geht aber offenbar die Umwandlung des Adenins in Hypoxanthin bei weitem schneller und vollständiger vor sich, wie diejenige des Guanins in Xanthin. Diese Differenz ist eine recht erhebliche. Meine Versuche bestätigen somit bis zu einem gewissen Grade die Resultate von Jones, nur daß ich ein völliges Fehlen der Fähigkeit, Guanin in Xanthin umzusetzen, nicht konstatieren konnte.<sup>1)</sup>

Es ist zweifellos interessant, daß bei den Versuchen mit Schweinemilzextrakt das Guanin der Desamidierung erheblich mehr Widerstand entgegensetzt wie das Adenin. Vor allem scheint mir diese Beobachtung für die Erklärung der Guaninicht des Schweines von einiger Wichtigkeit zu sein. Offenbar genügt die Kraft des betreffenden Fermentes dazu, im normalen Schweineorganismus den ganzen, in der Regel wohl relativ geringen Guaninumsatz zu bewältigen und Xanthin resp. Harnsäure aus dem Guanin

<sup>1)</sup> Die Angaben Jones' betreffs seiner Versuchsanordnung sind nicht genau genug, um über die Ursache unserer Versuchsdifferenz Klarheit zu geben. Er versäumt z. B. in einen Versuch die Angabe, wie lange die Autodigestion im Wärmeschrank durchgeführt wurde. Ich möchte aber einerseits darauf hinweisen, daß Jones die Fällung mit ammoniakalischer Silberlösung anwandte in einer sicher von Eiweiß (Albumosen und Peptonen) nicht ganz befreiten Lösung, was große Fehlerquellen bedingen kann (bis zu 90%, vergl. Krüger und Schittenhelm, Diese Zeitschrift, Bd. XLV, S. 14); andererseits unterläßt er prinzipiell Analysen seiner Endprodukte.

zu bilden, was daraus hervorgeht, daß im normalen Schweineurin so gut wie kein Guanin, wohl aber Xanthin und Harnsäure zu finden sind. Beim gichtkranken Schwein aber hat wohl irgend eine Schädlichkeit die an sich schon schwächere Fähigkeit noch mehr herabgesetzt oder aber vermag das normale Ferment einer infolge unzweckmäßiger Ernährung erhöhten Guaninzufuhr oder einer vermehrten intermediären Guaninbildung (synthetische Bildung von Purinbasen Burians) nicht genügend nachzukommen. Dadurch kommt es zum Kreisen abnorm großer Mengen von Guanin innerhalb des Organismus, der einerseits bestrebt ist, das Produkt mit dem Urin soweit möglich auszuführen, andererseits dasselbe, welches an sich schon schlechte Lösungsbedingungen zeigt, in den Geweben ablagert, wie der Mensch die Harnsäure. Es liegt, wie ich schon oben anführte, auf der Hand, darüber Versuche am lebenden Tier anzustellen, deren Resultate eventuell wertvolle Vergleiche für die menschliche Gicht liefern könnten. Beim Menschen kommen ja ähnliche Verhältnisse in Betracht und die jüngsten Untersuchungen von Bloch<sup>1)</sup> zeigen meines Erachtens in der Tat, was ich auf Grund vor allem Burians und meiner Untersuchungen schon lange annahm, daß fermentative Störungen im menschlichen Nuclein- und namentlich Harnsäurehaushalt vorkommen können, welche der harnsauren Diathese und der Gicht zugrunde liegen dürften.<sup>2)</sup>

Wenn sich der Befund von 2-Amino-6-8-Dioxy purin auch in weiteren Versuchen bestätigt und die Identifizierung desselben über jeden Zweifel erhaben ist, so sind diese Versuche noch von einem weiteren Interesse, indem sie zeigen, daß bei ein und demselben Tier die Umwandlung des Guanins auf zwei verschiedenen Wegen geschehen kann, je nachdem die Desamidierung oder die Oxydation zunächst ansetzt, wobei das

<sup>1)</sup> Arch. f. klin. Med., 1905, Bd. LXXXIII, S. 499.

<sup>2)</sup> Ich habe mich darüber in der demnächst erscheinenden Neuauflage der Ebsteinschen Monographie, die Gicht, in welcher Herr Geheimrat Ebstein die Liebenswürdigkeit hatte, mir ein Kapitel zur Bearbeitung zu überlassen, des genaueren ausgelassen, weshalb ich an dieser Stelle auf eine eingehende Besprechung verzichten kann.

eine Mal Xanthin, das andere Mal 2-Amino-6-8-Dioxy purin entsteht. Es ist jedoch auffallend, daß die Oxydation nicht zu Ende, d. h. bis zur Harnsäure, durchgeführt werden kann.

## II. Versuche mit Schweinelunge.

750 g Schweinelunge wurde fein zerhackt, mit Sand zerrieben und mit 2000 ccm Wasser wie gewöhnlich extrahiert. Von dem Endextrakt enthielten 450 ccm (nach Aufschluß durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure) 0,021 g Purinbasenstickstoff.

Es wurden nun drei gleichartige Versuche angesetzt, je mit 450 ccm Extrakt und je mit Beigabe von 0,3 g in wenig Normalnatronlauge gelösten Guanins. Diese Reaktionsgemische wurden getrennt drei Tage lang unter Luftchloroformdurchleitung bei 37° gehalten.

In keinem der drei Versuche fand sich bei deren weiterer Verarbeitung Harnsäure.

Die Rückstände der Harnsäurebestimmungen wurden zusammen verarbeitet. Es konnten daraus 0,38 g Guanin wiedergewonnen werden, welche in Sulfat verwandelt wurden.

0,2000 des Sulfats verbrauchten 45,3 ccm  $\frac{1}{10}$ -Normalsalzsäure

Gef.: 31,71% N

Verl.: 32,11% N.

Aus dem Guaninfiltrat wurden

**0,55 g Xanthin isoliert.**

Dieselben gaben das typische Nitrat und wurden daraus als freies Xanthin wiedergewonnen.

0,1508 g verbrauchten 39,4 ccm

Verl.: 36,84% N

Gef.: 36,58% N.

Die Versuche zeigen also, daß der Schweinelunge die Fähigkeit zukommt, Aminopurine in Oxypurine umzusetzen, daß aber (wenigstens unter den vorliegenden Versuchsbedingungen) im Gegensatz zur Rinderlunge es nicht bis zur Bildung von Harnsäure kommt.

## III. Versuche mit Schweineleber.

450 ccm des von mir angewandten Extraktes enthielten 0,039 g Purinbasenstickstoff.

Es wurden nun zunächst **0,3 g** in wenig Normalnatronlauge gelöster Harnsäure, wie oft beschrieben, der Einwirkung von 450 ccm Extrakt drei Tage lang ausgesetzt. Es wurden nur mehr Spuren von Harnsäure wiedererhalten.

Ein anderer Versuch war, wie üblich, mit 0,3 g in Natronlauge gelösten Guanins drei Tage unter Luftdurchleitung angesetzt. Es wurden am Schlusse des Versuches 0,118 g Basenstickstoff wiedergefunden, welche nach Abzug der im Extrakt bereits vorhandenen Purinbasen (0,039 g Basenstickstoff) nur einen Bruchteil des zugegebenen Guanins ausmachen.

Endlich wurde noch ein Versuch angesetzt, bei dem 900 ccm Extrakt mit 1 g in Normalnatronlauge gelösten Guanins 14 Tage lang im Brutschrank gehalten wurden. Danach fand sich die bei weitem größere Menge des Guanins unverändert wieder.

Die Versuche mit Schweineleber bedürfen der Wiederholung, da das Resultat keineswegs klar ist. Vor allem muß mit Sauerstoffzufuhr gearbeitet werden. Es scheint aber, als ob hier ähnliche Verhältnisse vorlägen, wie bei der Schweinemilz und als ob die Fähigkeit, Guanin in Xanthin umzusetzen, eine relativ geringe sei. Ich komme also auch hier den Jones'schen Feststellungen sehr nahe.

Harnsäurezerstörend vermag die Schweineleber offenbar zu wirken, vielleicht auch harnsäurebildend; doch müssen weitere Versuche abgewartet werden.

#### IV. Versuche mit Pferd milz.

660 g Pferd milz wurden mit 2000 ccm Wasser, wie gewöhnlich, zum Extrakt verarbeitet und damit folgende Versuche angestellt:

1. 450 ccm Extrakt, ohne Zusatz, gehen drei Tage lang unter Luftdurchleitung bei 37°.

Erhalten **0,10 g** Harnsäure.

2. 450 ccm Extrakt + 0,3 g in wenig Normalnatronlauge gelösten Guanins analog angesetzt.

Erhalten **0,41 g** Harnsäure.

Demnach sind 94% des zugegebenen Guanins in Harnsäure umgesetzt.

3. Derselbe Versuch wiederholt.

Erhalten **0,40 g Harnsäure.**

Demnach sind **91%** des zugegebenen Guanins in Harnsäure umgesetzt.

Die Harnsäurepräparate wurden vereinigt, umgefällt und analysiert.

0,1508 g verbrauchten 35,9 ccm  $\frac{1}{10}$ -Normalsalzsäure

Verl.: 33,33% N

Gef.: 33,32% N.

Es unterliegt demnach gar keinem Zweifel, daß die Pferdemilz ganz dieselbe Stellung im Nucleinstoffwechsel einnimmt, wie die Rindermilz, indem sie die Aminopurine zu Oxypurinen umsetzt und diese wieder in Harnsäure verwandelt. Dabei kommt nicht in Betracht, ob die Purinbasen in organischer Bindung oder frei zugesetzt werden.

#### V. Versuche mit Menschenmilz.

Ich verfüge nur über einen orientierenden Versuch, den ich mit der Milz eines an einem Herzleiden verstorbenen Mannes, welche ca. 18 Stunden post mortem bei der Obduktion entnommen wurde, angestellt habe. Dieselbe wog 200 g und wurde mit 500 ccm Wasser, wie üblich, zu einem Extrakt verarbeitet.

450 ccm Extrakt wurden mit 0,3 g Guanin drei Tage lang unter Luftdurchleitung bei  $37^{\circ}$  digeriert.

Es fand sich keine Harnsäure.

Dagegen erhielt ich nach zweimal wiederholter Basenfällung 0,15 g einer Substanz, welche sich spielend in Ammoniak löste und beim Abdampfen des Ammoniaks wieder als Schollen zum Vorschein kam. Dieselbe wurde auf dem Filter gesammelt, gewaschen und bei  $140^{\circ}$  getrocknet.

0,127 g verbrauchten 32,9 ccm  $\frac{1}{10}$ -Normalsalzsäure

Gefunden: 36,27% N.

Es lag demnach offenbar Xanthin vor.

In diesem Versuch war also eine Umsetzung des Guanins in Xanthin erfolgt, nicht aber eine Bildung von Harnsäure. Immerhin lassen sich, bevor nicht weitere

Versuche angestellt sind, keine bindenden Schlüsse über die menschliche Milz ziehen.

Betrachtet man die Erfahrungen, welche vorliegende Versuche ergeben haben, zusammen, so liefern sie das wichtige Resultat, daß bei ganz derselben Versuchsanordnung dieselben Organe bei verschiedenen Tierarten erheblich abweichende chemische Eigenschaften zeigen. Während z. B. die Milz vom Rind und Pferd ohne weiteres quantitativ Harnsäure zu bilden vermag, geht diese Fähigkeit der Milz des Menschen, Hundes und Schweines offenbar ganz ab. Geringere mehr quantitative Differenzen zeigen sich bei der Umwandlung der Aminopurine in Oxypurine. Die Einzelheiten sind an Ort und Stelle hervorgehoben.

Diese Beobachtungen legen einige Vorsicht nahe für die Beurteilung der Stellung eines Organes im Nucleinstoffwechsel einer bestimmten Tierart nach Resultaten, welche an anderen Tierarten erhalten wurden, und sie zeigen wieder einmal, daß der Stoffwechsel verschiedener Arten, wenn auch die Endprodukte annähernd dieselben sind, doch in seinem feineren Mechanismus recht erhebliche Abweichungen zeigen kann.

Weitere vergleichende Untersuchungen hierüber werden sicherlich zu interessanten Feststellungen führen.

---