

Über die Fermente des Nucleinstoffwechsels.

Von

Alfred Schittenhelm und Julius Schmid.

(Aus der II. medizinischen Klinik der Charité und der inneren Abteilung des
Krankenhauses Charlottenburg-Westend.)

(Der Redaktion zugegangen am 27. Oktober 1906.)

Der Nucleinstoffwechsel bildet im Lichte der vergleichenden physiologisch-chemischen Forschung interessante Verschiedenheiten. Es scheint so, als ob bei verschiedenen Tierarten der komplizierte Prozeß der Harnsäurebildung nicht in denselben Organen und mit derselben Intensität vor sich geht. Über die Harnsäurezerstörung sind die Untersuchungen noch nicht weit genug geführt, um ein Urteil zu erlauben. Es steht zunächst nur so viel fest, daß in einem Organ, z. B. der Rindermilz, unter gewissen Versuchsbedingungen eine reichliche Bildung von Harnsäure erreicht werden kann, während davon in demselben Organ einer anderen Tierart, z. B. dem Schwein, nicht die Rede ist.¹⁾ Jones²⁾ hat nun zum Teil in Gemeinschaft mit Austrian eine ähnliche Beobachtung bei der Umwandlung der Aminopurine in Oxypurine gemacht. Er hat z. B. gefunden, daß zwar, wie schon feststand, in der Rinderleber Guanin und Adenin in die entsprechenden Oxypurine gleichmäßig umgewandelt werden, daß aber in der Schweineleber nur Adenin in Hypoxanthin umgewandelt wird, nicht aber Guanin in Xanthin, und in der Kaninchenleber umgekehrt nur Guanin in Xanthin, nicht aber Adenin in Hypoxanthin. Mit anderen Worten wäre

¹⁾ Schittenhelm, Der Nucleinstoffwechsel und seine Fermente bei Mensch und Tier, Diese Zeitschrift, 1905, Bd. XLVI, S. 354.

²⁾ Jones, Über das Vorkommen der Guanase in der Rindermilz und ihr Fehlen in der Milz des Schweines, Diese Zeitschrift, 1905, Bd. XLV, S. 84; Jones und Austrian, Über die Verteilung der Fermente des Nucleinstoffwechsels, Diese Zeitschrift, 1906, Bd. XLVIII, S. 110.

sonach in der Rinderleber eine «Guanase» und «Adenase», in der Kaninchenleber nur eine «Guanase» vorhanden.

Hydrolysieren wir die ganzen Organe und bestimmen die Art ihrer Purinkörper, so hat sich, soweit derartige Untersuchungen bis jetzt vorliegen, stets gefunden, daß sämtliche Organe, wenigstens die drüsigen, in ihren Nucleinen vornehmlich Guanin und Adenin enthalten. Dies gilt vor allem auch für die Leber. Da wir annehmen müssen, daß bei den lebhaften Stoffwechselfvorgängen dieses Organes beständig Zellkerne, ebenso wie das übrige Zellprotoplasma, infolge der Abnützung zugrunde gehen und wieder neu entstehen, so müssen also ebenda auch andauernd Guanin und Adenin in freier Form, infolge weiteren Abbaus der zugrunde gegangenen Zellkernnucleine, vorhanden sein, natürlich in kleinen Mengen. Eventuell passiert auch vom Darm her und aus den übrigen Speisestätten des Pfortaderkreislaufes freies Guanin und Adenin die Leber.

Nehmen wir nun mit Jones an, entweder das Guanin oder das Adenin würde in der Leber eines bestimmten Tieres nicht weiter verändert, so müßte der betreffende Körper permanent in den Blutkreislauf geraten und mit dem Urin ausgeschwemmt werden. Die Untersuchungen tierischer Urine haben aber bis heute die Tatsache nicht ergeben, daß bei gewissen Arten die eine oder andere Purinbase in erheblicherer Menge ausgeschieden wird. Vielmehr hat sich z. B. beim normalen Schwein, bei welchem ja nach Jones die «Guanase» sowohl in der Leber als in der Milz fehlt und demnach das Guanin im Urin entschieden in reichlicherer Menge gefunden werden müßte, ergeben, daß nur ganz wenig Guanin vorhanden ist, so viel ungefähr als Adenin, und ganz wesentlich weniger als Oxypurine.

Es stößt also das Untersuchungsergebnis von Jones, wonach das Fehlen eines der Fermente beim betreffenden Tiere eine spezielle Arteigenschaft ist, auf Schwierigkeiten, wenn man es mit den übrigen Tatsachen zusammenhält. Das absolute Fehlen einer «Guanase» oder «Adenase» gerade in dem Zentralorgan, der Leber, ist physiologisch nicht ohne weiteres

anzunehmen. Es muß also der Versuch unternommen werden, ob nicht doch ein Versuchsweg gefunden werden kann, auf dem ein gänzlicher Abbau gelingt. Wir möchten übrigens hier auch zu bedenken geben, daß das negative Resultat keineswegs zu solch weittragenden Schlüssen berechtigt. Wir wissen z. B., daß es mit Organpreßsäften nicht gelingt, aus Monoaminosäuren Harnstoff zu gewinnen.¹⁾ Und doch dürfen wir keineswegs annehmen, daß also in diesen Organen die entsprechenden Kräfte fehlen.

Aus solchen Überlegungen kamen wir zu einer Wiederholung der Jonesschen Versuche, und hofften um so mehr auf Erfolg, als ja bereits bei der Milz des Schweines der Nachweis der «Guanase» im Gegensatz zu Jones gelungen war.²⁾

Wir begannen unsere Versuche mit der Kaninchenleber. Von ihr ist bereits durch Jones und Austrian³⁾ gefunden, daß sie Guanin in Xanthin umzuwandeln vermag. Wir konnten nun feststellen, daß sie auch die Fähigkeit besitzt, Adenin in Hypoxanthin umzusetzen. Sie produziert aber fernerhin offenbar aus den Oxypurinen Harnsäure und vermag diese wiederum in weitem Maße zu zerstören, so daß sie also im Kaninchenorganismus genau dieselbe Rolle spielt, wie die Rinderleber im Organismus des Rindes, wenigstens was den Nucleinstoffwechsel anbelangt.

Mit den übrigen Kaninchenorganen hatten wir nur zwei positive Resultate zu verzeichnen. Einmal gelang die Umwandlung von Guanin in Xanthin mittels Lungenextraktes — und dann vermochten wir in der Kaninchenniere harnsäurezerstörende Fähigkeiten nachzuweisen.

Bei den Kaninchenleberversuchen hatten wir, was das Adenin anbelangt, zwei negative zu verzeichnen und erst der dritte war positiv und zwar so deutlich, daß ein Zweifel nicht bestehen kann. Woran der Fehler liegt, ob am Extrakt oder

¹⁾ Abderhalden und Schittenhelm, Die Wirkung der proteolytischen Fermente keimender Samen des Weizens und der Lupinen auf Polypeptide. Diese Zeitschrift, 1906, Bd. XLIX, S. 26.

²⁾ Schittenhelm, l. c.

³⁾ Jones und Austrian, l. c.

an der mangelhaften Aktivierung des Fermentes usw., können wir nicht sagen.

Wir haben auch die anderen Organe, zunächst einmal Schweineleber, in Angriff genommen. Auch hier werden wir allerhand verschiedene Versuchsanordnungen anwenden, vor allem werden wir das Guanin in gebundener Form als Nucleinsäure zugeben, um zum Ziele zu gelangen.

Eine weitere Versuchsreihe beschäftigte sich mit Katzenorganen. Wir haben jedoch nur einen positiven Versuch zu verzeichnen, nämlich den, daß die Katzenleber Guanin in Xanthin umzuwandeln vermag. Die übrigen Versuche mit Darm, Lunge usw. waren negativ verlaufen, weshalb wir auf eine Wiedergabe verzichten.

Zum Schlusse teilen wir noch mit, daß wir dabei sind, auch menschliche Organe auf ihre Fähigkeiten Purinbasen und Harnsäure gegenüber zu prüfen.

Experimenteller Teil.

A. Kaninchenorgane.

Versuch I. 85 g Kaninchenleber, mit Kieselgur fein zerrieben, werden mit ca. 100 ccm Wasser und 0,3 g in ganz wenig Normalnatronlauge gelösten Adenin unter Zusatz von Chloroform und Toluol angesetzt. Durch das Gemisch wird 7 Tage hindurch Luft durchgeleitet und das verdunstende Wasser, das Chloroform und Toluol immer wieder ersetzt.

Nach Abbruch des Versuchs wurde mit Natronlauge schwach alkalisch gemacht, aufgeköcht, mit Essigsäure schwach angesäuert, vom Niederschlag abfiltriert. Der Niederschlag wurde nochmals in gleicher Weise behandelt und schließlich ausgeköcht. Aus den vereinigten Filtraten wurden die Basen als Kupferoxydulverbindungen isoliert, diese gut gewaschen, in Wasser suspendiert, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und vom Schwefelkupfer abfiltriert. Das Filtrat wurde leicht salzsauer gemacht, auf 8—10 ccm eingeengt und stehen gelassen.

Das dabei Ausgefallene wurde abfiltriert. Menge des getrockneten Produktes 47 mg. Es gab schwache Murexid-, starke Xanthin- und Weidelsche Probe. Der größte Teil löste sich

in verdünntem Ammoniak. Diese Lösung wurde wieder eingedampft, der Rückstand in wenig Normalnatronlauge gelöst und in wenig 50%iger Salpetersäure filtriert. Beim Erkalten und Stehenlassen fiel Xanthinnitrat als schweres Krystallpulver in typischer Krystallform, zu Aggregaten vereinigte kleine Plättchen, aus.

Das salzsaure Filtrat vom Xanthin wurde zur Trockene eingedampft. Der Rückstand gab weder Murexidprobe noch Xanthinproben. Er wurde in 20 ccm Wasser leicht erwärmt, wobei alles in Lösung ging, und nach dem Erkalten mit Natriumpikrat versetzt. Dabei gab es nur eine ganz minimale Trübung. Es war also kein Adenin mehr vorhanden.

Zur Entfernung der Pikrinsäure wurde die Lösung mit HNO_3 versetzt und mit Benzol mehrere Male ausgeschüttelt. Aus der entfärbten und neutral gemachten Lösung wurden die Basen als Kupferoxydulverbindungen isoliert. Diese mit viel heißem Wasser gewaschen und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Das Filtrat wurde zur Trockene eingedampft. Gewicht des Rückstandes **0,185 g**. Derselbe wurde nach Vorschrift in heißer 10%iger Salpetersäure gelöst. Beim Erkalten fiel das Hypoxanthinnitrat in seiner typischen Krystallform, als große Tonnen- und Wetzsteinformen, aus. Dasselbe wurde lufttrocken analysiert.

0,129 g Substanz gaben 0,131 g CO_2 und 0,0424 g H_2O	
Berechnet für $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O} \cdot \text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}$:	Gefunden:
27,76% C	27,76% C
3,22% H	3,64% H

Es waren demnach bei diesem Versuch an Stelle der zugegebenen **0,3 g** Adenin gefunden worden **0,185 g** Hypoxanthin und **0,047 g** Xanthin, welchen vielleicht ganz geringe Mengen Harnsäure beigemischt waren.

Versuch II. 1 Kaninchenlunge, gut zerrieben, mit 50 ccm Wasser und 0,05 g Guanin in ganz wenig Normalnatronlauge gelöst, bleiben unter Zusatz von Chloroform und Toluol mehrere Tage im Brutschrank.

Wie üblich verarbeitet.

Erhalten wurde Xanthin, das durch seine Löslichkeit in

Ammoniak und durch den positiven Ausfall der Xanthinproben identifiziert wurde.

Versuch III. 2 Kaninchennieren fein zerrieben mit 20 ccm Wasser und 0,05 g Harnsäure in wenig Normalnatronlauge gelöst werden mehrere Tage im Brutschrank unter Zusatz von Chloroform gelassen.

Wie gewöhnlich verarbeitet.

Es wurden nur geringe Spuren Harnsäure wiedergefunden.

Versuch IV. 100 ccm Leberextrakt (1 Teil Leber, 2 Teile Wasser wie früher beschrieben) werden mit 0,2 g Harnsäure, die in wenig Normalnatronlauge gelöst wurden, unter Zusatz von Toluol und Chloroform mehrere Tage im Brutschrank gelassen. Dann wie gewöhnlich verarbeitet.

Wiedergefunden nur minimale Spuren von Harnsäure.

Versuch V. 1 Kaninchenleber, fein zerkleinert und zerrieben, wird mit 100 ccm Wasser und 0,3 g in wenig Normalnatronlauge gelöster Harnsäure unter Zusatz von Chloroform und Toluol bei 38° angesetzt; dabei wird drei Tage lang Luft durchgeleitet, dann der Versuch abgebrochen und wie gewöhnlich verarbeitet.

Es konnte keine Harnsäure wiedergefunden werden.

B. Katze.

Versuch VI. 1 Katzenleber (60 g), fein zerrieben und mit 100 ccm Wasser versetzt, wird mit 0,4 g in wenig Normalnatronlauge gelösten Guanins unter Zusatz von Chloroform und Toluol 6 Tage lang unter Luftdurchleitung bei 38° gehalten.

Verarbeitet wie Versuch I.

Gefunden Spuren von Harnsäure. Typische Krystallform, positive Murexidprobe.

Sodann konnte etwas über 0,1 g Xanthin isoliert werden.

0,0736 g Substanz gaben 23,2 ccm N; T. = 15°; B. = 758 mm.

Berechnet für $C_5H_4N_4O_2$:

36,84% N

Gefunden:

36,81% N.

Der Rest konnte nicht mit Sicherheit identifiziert werden.