

Über das Nucleoproteid der Schweinsleber.

Von

Dr. **Vittorio Scaffidi**, Assistent am Institute für allgemeine Pathologie
zu Neapel.

(Aus der chemischen Abteilung des pathologischen Instituts der Universität zu Berlin
und dem Institut für allgemeine Pathologie zu Neapel.)

(Der Redaktion zugegangen am 9. Dezember 1908.)

Hammarsten¹⁾ stellte aus dem Pankreas, mittels andauerndem Auskochen und Fällung des Filtrates mit Essigsäure, eine Substanz dar, welche die Eigenschaften des Nucleoproteids aufweist.

Wohlgemuth²⁾ untersuchte später, mit der gleichen Methode, das Nucleoproteid der Rinderleber. Er erhielt von 1 kg Leber durchschnittlich 3—4 g einer weißlichen oder bräunlichen Substanz mit einem Gehalt an Phosphor von 2,5—3⁰/₀.

Schmiedeberg³⁾ stellte aus der Leber von Schweinen mit einer der von Hammarsten und Wohlgemuth angewandten ähnlichen Methode eine Substanz dar, die sich durch einen hohen Eisengehalt (ca. 6⁰/₀) auszeichnete. Er legte derselben den Namen Ferratin bei.

Nach Beccari⁴⁾ aber würde das Ferratin die Nucleoproteidgruppe darstellen, welche sich unter der Einwirkung der Hitze von Lebernucleoproteiden abspaltet und in der Brühe in Lösung bleiben würde. Er fand in demselben 1,62⁰/₀ Fe und 2,23⁰/₀ P.

¹⁾ Hammarsten, Diese Zeitschrift, Bd. XIX, 1894.

²⁾ Wohlgemuth, Diese Zeitschrift, Bd. XXXVII, S. 475 und Bd. XLII, S. 519.

³⁾ Schmiedeberg, Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmak., Bd. XXXIII, 1894, S. 101.

⁴⁾ Beccari, Lo Sperimentale, 1902.

Ich habe ¹⁾ aus der Kaninchenleber ein Nucleoproteid dargestellt, das im Durchschnitt 0,26% Fe enthält. Der Gehalt an Eisen stieg nach Verabreichung einer organischen Eisenverbindung (paranucleinsaures Eisen = Triferrin) bis zu einem Mittel von 0,66%. Der Gehalt an P schwankte sowohl unter normalen Verhältnissen, als nach Fütterung mit Eisen innerhalb enger Grenzen, mit einem Mittel von 2,67%.

Die von mir in vorliegenden Untersuchungen befolgte Methode, um das Nucleoproteid darzustellen, ist diejenige, welche Hammarsten für die Darstellung des Nucleoproteids aus dem Pankreas, Wohlgemuth und ich aus der Rinder- resp. Kaninchenleber angewandt haben. Ich verwendete Schweinsleber und zweimal Rinderleber.

Die Leber wurde fein zerhackt, mit dem 2—3fachen Volumen Wasser 2- bis 3mal gekocht; die Brühe wurde abgekühlt, filtriert und mit einer geringen Menge verdünnter Essigsäure versetzt. Es fiel eine Substanz von meist flockigem Aussehen aus. Diese wurde auf einem Filter gesammelt, mit Wasser, 90%igem Alkohol, Alkohol abs. und Äther gewaschen. Einige Male wandte ich, wie weiter unten ersichtlich, zum Ausfällen statt verdünnter Essigsäure Weinsäurelösung an, wie sie schon von Schmiedeberg benutzt worden ist. Bei andern Versuchen habe ich den auf dem Filter gesammelten und mit Alkohol entwässerten Niederschlag mit verdünntem Ammoniak wieder in Lösung gebracht und dann nochmals mit Essigsäure resp. Weinsäure ausgefällt.

Man erhält so aus der Schweinsleber eine weißliche bis bräunliche Substanz, die nach Reinigung mittels NH_3 rot-bräunlich wird. Sie ist leicht hygroskopisch und enthält ca. 12% Stickstoff, eine Phosphorgruppe und eine Puringruppe; sie zeigt mit Orcinsalzsäure und Phloroglucinsalzsäure die Reaktion der Pentose, hat also die Eigenschaften eines Nucleoproteids. Die Substanz enthält immer Eisen in etwas schwankenden Mengen.

In den hier folgenden Tabellen sind die Ergebnisse der Analysen zusammengestellt, welche ich an den von mir, wie oben angegeben, dargestellten Nucleoproteiden vorgenommen

¹⁾ Scaffidi, Diese Zeitschrift, Bd. LIV, S. 448.

habe, mit hauptsächlichlicher Berücksichtigung des in ihnen enthaltenen Eisens und Phosphors.

Der Phosphor ist in der Form von Magnesiumpyrophosphat, das Eisen in der von Ferriphosphat bestimmt worden.

In der Tabelle I sind die Ergebnisse einer ersten Serie von Versuchen dargestellt, bei welcher Fe und P in dem Schweinslebernucleoproteid, welches mittels Essigsäure ausgefällt worden war, bestimmt worden sind.

Tabelle I.

	Ver- such	Menge des analysierten Nucleo- proteids g	Gesamt- menge des Eisens mg	Gesamt- menge des Phosphors mg	Eisen % %	Phos- phor %
Schweinsleber- nucleoproteid	1	0,5260	3,45	12,25	0,65	2,32
	2	0,8530	4,7	22,8	0,55	2,67
	3	0,3310	6,4	10,4	1,93	3,18
	4	0,4448	3,1	15,0	0,63	3,09
	5	0,3745	6,3	9,8	1,68	2,61
Rinderleber- nucleoproteid	6	0,3228	0,63	9,45	0,19	2,92
	7	0,6547	1,2	19,5	0,18	2,94

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß mit der angegebenen Methode aus der Schweinsleber ein Körper dargestellt wird, dessen Eisengehalt von 0,55 % bis zu 1,93 % schwankt und der 2,32 bis 3,18 % Phosphor enthält.

In dem auf die gleiche Weise dargestellten Nucleoproteid der Rinderleber findet man 0,18 bis 0,19 % Fe und 2,92 bis 2,94 % P, also Mengen dieses letzteren Körpers, die den von Wohlgemuth aufgefundenen entsprechen.

Während die Menge des in der Substanz enthaltenen P innerhalb ziemlich enger Grenzen schwankt, sind die Schwankungen des in derselben enthaltenen Fe recht bedeutend: von einem Minimum von 0,55 % zu einem Maximum von 1,93 %.

Einen höheren Prozentgehalt an Fe weist die Substanz auf, wenn sie mit verdünntem NH_3 wieder gelöst und dann abermals mit Essigsäure ausgefällt worden ist.

Tabelle II.

	Ver- such	Menge des analysierten Nucleo- proteids g	Gesamt- menge des Eisens g	Gesamt- menge des Phosphors mg	Eisen ‰	Phos- phor ‰
Mit NH ₃ ge- reinigtes	1	0,1613	5,8	4,4	3,59	3,32
	2	0,4638	4,7	13,1	0,93	2,82
Schweinsleber- nucleoproteid	3	0,3481	7,3	10,7	2,09	3,07
	4	0,4439	6,8	14,3	1,53	3,22

Man sieht aus Tabelle II, daß bei diesem letzteren Vorgehen der Prozentgehalt an Eisen auf 3,59 ansteigt; die großen Schwankungen im Eisengehalt, wie sie in den vorher besprochenen Versuchen vermerkt worden, bleiben aber auch hier bestehen; so ist in den vorliegenden Versuchen der niedrigste Prozentgehalt an Eisen 0,93. P schwankt zwischen 2,72 und 3,22 ‰.

Aus den Bestimmungen ergibt sich also, daß aus der Schweinsleber durch Auskochen und darauffolgendes Ausfällen mit Essigsäure eine Substanz dargestellt wird, welche einen Prozentgehalt an P aufweist, der ungefähr dem von Wohl-gemuth für Rinderleber aufgefundenen entspricht und auch dem des Nucleoproteids der Kaninchenleber.

Was das Eisen anlangt, so zeigt dieses eine Schwankung des Prozentgehaltes, wie sie in meinen früheren Bestimmungen (l. c.) am Nucleoproteid der Kaninchenleber zutage getreten sind, wenn auch das Mittel des Fe in der Schweinsleber ein höheres ist.

Die Prozentzahlen für Eisen, welche ich in vorliegenden Versuchen gefunden habe, sind aber immer niedriger als die von Schmiedeberg¹⁾ angegebenen und auch als diejenigen, welche Marfori²⁾ im Ferratin mittels Ausfällung durch Weinsäure bestimmt hat: diese letzteren schwanken zwischen 4 und 7 ‰ mit einem Mittel von 6 ‰.

¹⁾ Schmiedeberg, l. c.

²⁾ Marfori, Archiv für experim. Pathol. u. Pharmak., Bd. XXIX.

In einer anderen Serie von Versuchen habe ich dann den Prozentgehalt an Eisen und Phosphor in der Substanz bestimmt, sowohl wenn diese aus der Leberbrühe mit Essigsäure, als auch wenn sie mit Weinsäure ausgefällt worden.

In folgender Tabelle (s. Tabelle III) sind die Werte, welche sich bei diesen Bestimmungen ergaben, zusammengestellt.

Man verwendete bei all diesen Versuchen 500 g Schweinsleber. Diese wurde zerhackt, 3mal ausgekocht und die Auszüge gemischt, abgekühlt und filtriert. Die Gesamtmenge der Auszüge wurde in zwei gleiche Teile geteilt und das Nucleoproteid aus dem einen mit Essigsäure, aus dem anderen mit Weinsäure ausgefällt. Die Werte einer jeden Bestimmung gelten also für das Nucleoproteid, das bei den Versuchen jeweils aus der Hälfte von 500 g ein und desselben Stückes Schweinsleber mit Weinsäure oder Essigsäure dargestellt worden ist.

Außer den Bestimmungen des Fe und des P in Nucleoproteid wurden immer solche für Fe auch in der abfiltrierten Brühe, sowohl nach Ausfällung mit Essigsäure, als mit Weinsäure vorgenommen.

Tabelle III.

Ver- such	Nucleo- proteid aus der Hälfte Brühe von 50 g Leber ausgefällt mit	Menge des er- haltenen Nucleo- proteids g	Eisen im Nucleo- proteid mg	Eisen im Filtrat mg	Eisen im ganzen mg	Fe im Nucleo- proteid %	P im Nucleo- proteid %
1	Essigsäure	0,735	10,5	11,4	21,90	1,43	2,54
	Weinsäure	1,1403	12,53	8,9	21,43	1,1	2,45
2	Essigsäure	0,8999	18,36	6,4	24,76	1,93	2,88
	Weinsäure	1,0147	19,47	4,4	23,87	1,93	2,95
3	Essigsäure	0,8420	5,38	9,6	14,98	0,63	2,94
	Weinsäure	0,8404	4,75	10,7	15,45	0,54	3,00
4	Essigsäure	0,4279	15,15	7,3	22,45	3,54	3,24
	Weinsäure	0,5873	14,34	8,4	22,74	2,44	3,13 ¹⁾

¹⁾ Die Werte des Versuchs 4 gelten für mit NH_3 gereinigtes Nucleoproteid.

Die Menge des Nucleoproteids, das aus je 250 g ein und desselben Stückes Schweinsleber mit Essigsäure oder Weinsäure ausgefällt werden konnte, ist nur einmal gleich gewesen. Sie ist in dem ersten Versuche für die mit Weinsäure ausgefällte Substanz beträchtlich größer, und auch in dem zweiten und vierten Versuche bleibt sie bei Ausfällung mit Weinsäure etwas höher.

Aus den Mittelwerten ist ersichtlich, daß man bei Ausfällung mittels Weinsäure ca. 3,5—4,5 g Nucleoproteid pro Kilo Leber erhält, während die Ausfällung mit Essigsäure nur 3 bis 3,7 g pro Kilo Leber liefert.

Auch der Prozentgehalt an Eisen im Nucleoproteid, das aus der gleichen Menge des gleichen Leberstückes dargestellt worden, ist verschieden, je nachdem man das Nucleoproteid mit Essigsäure oder mit Weinsäure ausgefällt hat. In diesem letztern Falle (d. h. bei Ausfällung mittels Weinsäure) findet man im allgemeinen einen kleineren Prozentgehalt an Fe, und zwar ist er geringer als der des Nucleoproteids, das mit Essigsäure ausgefällt worden ist, obwohl die absolute Menge des Eisens im Nucleoproteid nach Ausfällung mit Weinsäure in zwei Versuchen (1 und 2) höher ist, als bei der Ausfällung mit Essigsäure.

Bestimmungen des Eisens in den bezüglichen Filtraten zeigen, daß wechselnde Mengen des Metalls in Lösung bleiben.

Der Phosphor schwankt innerhalb der gewöhnlichen Grenzen, wie sie schon in den vorhergehenden Bestimmungen aufgefunden worden sind. Aus dem Vergleiche der Werte eines jeden Versuches ergibt sich, daß das Nucleoproteid der gleichen Leber sowohl, wenn die Ausfällung mittels Essigsäure, als auch wenn sie mittels Weinsäure vorgenommen worden ist, annähernd gleiche Prozentzahlen für P aufweist.

Wenn man aber das Nucleoproteid mit verdünntem NH_3 löst und dann abermals mit Essigsäure resp. Weinsäure ausfällt, zeigt es sich reicher an Eisen und auch sein P-Gehalt steigt, wenn auch in geringerem Maße.

In folgender Tabelle IV sind die Prozentzahlen für Fe und P zusammengestellt, wie sie sich aus den Bestimmungen an ein und demselben Nucleoproteid ohne oder nach Reinigung mit NH_3 ergeben haben.

Es wurde bei diesen Versuchen folgendermaßen vorgegangen: von dem aus der in zwei Teile geteilten Brühe ein und desselben Leberstückes, mit Essigsäure resp. mit Weinsäure ausgefallten Nucleoproteid wurde eine gewisse Menge mit verdünntem NH_3 gelöst. Die Lösung wurde filtriert, aus dem Filtrat abermals das Nucleoproteid ausgefällt und zwar jeweils, wie bei den ersten Ausfällungen, mit Essigsäure oder mit Weinsäure.

Die so gesammelte Substanz wurde mit Wasser, Alkohol von 90⁰/₀, Alkohol absolut. und Äther gewaschen.

Tabelle IV.

Ver- such	Nucleoproteid	Menge des analysierten Nucleo- proteids g	Gesamt- menge des Eisens mg	Fe %	P %
1	ungereinigtes	0,8530	4,7	0,55	2,67
	mit NH_3 gereinigtes	0,3578	3,4	0,95	3,27
2	ungereinigtes	0,5053	9,7	1,91	2,95
	mit NH_3 gereinigtes	0,3714	8,5	2,30	3,5
3	ungereinigtes	0,4082	4,0	0,96	2,65
	mit NH_3 gereinigtes	0,3796	5,4	1,42	2,89
4	ungereinigtes	0,3990	5,7	1,43	2,54
	mit NH_3 gereinigtes	0,3885	7,3	1,88	3,45

Aus dieser Tabelle IV ist ersichtlich, wie die Eisengehalte des Nucleoproteids sich verändern, je nachdem man die Substanz mit NH_3 reinigt oder nicht.

Der Prozentgehalt an Fe nimmt nach erfolgter Reinigung immer zu. Es ist aus den in der Tabelle zusammengestellten Werten ersichtlich, daß das Mittel der Prozentzahlen für Fe im Nucleoproteid vor der Reinigung 1,21 ist, nach der Reinigung aber auf 1,60 ansteigt.

Es steigen auch die Prozentzahlen des P im gereinigten Nucleoproteid gegenüber denjenigen des ungereinigten; in diesem ist das Mittel 2,7 % P, in jenem, dem gereinigten, steigt es auf 3,28 %.

Woltering¹⁾ hat nun auch ein Nucleoproteid aus der Leber durch Ausziehen mit Chloroformwasser und kochsalzhaltigem Chloroformwasser in der Kälte und Fällung mit Essigsäure dargestellt. Ich habe diese Versuche wiederholt, außerdem auch die Extraktion mit schwach ammoniakhaltigem Wasser angewendet.

Es wurde in folgender Weise verfahren: Ca. 600 g einer Schweinsleber wurden zerhackt: 200 g des Breies wurden mit Wasser gekocht und aus dem abgekühlten und filtrierten Auszug das Nucleoproteid mit Essigsäure ausgefällt: weitere 200 g wurden mit ca. 600 ccm Chloroformwasser während 24 Stunden ausgezogen, dann die Flüssigkeit abgegossen und der Rückstand nochmals 24 Stunden in wässriger 1 %iger NaCl-Lösung gelassen. Beide Auszugsflüssigkeiten wurden zusammengegossen, filtriert und aus dem Filtrat das Nucleoproteid mit Essigsäure ausgefällt. Die letzten 200 g des Leberbreies wurden 24 Stunden lang in 600 ccm leicht mit NH_3 versetztem Wasser ausgezogen. Aus der abfiltrierten Flüssigkeit wurde das Nucleoproteid mit Weinsäure oder Essigsäure ausgefällt. Die Ergebnisse sind in nachfolgender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle V.

Ver- such	Darstellungsweise des Nucleoproteids	Menge des er- haltenen Nucleo- proteids g	Fe im Nucleo- proteid %	P im Nucleo- proteid %
1	Ausfällung { Auskochen	0.7381	0.93	2.82
	mit Wein- { Ausziehen (Ammoniakwasser	0.5813	0.28	0.75
	säure nach { mit (Chloroformwasser	0.5174	0.72	1.32
2	Ausfällung { Auskochen	0.6313	1.42	2.86
	mit Essig- { Ausziehen (Ammoniakwasser	0.5174	0.35	0.90
	säure nach { mit (Chloroformwasser	0.5383	0.64	1.09

Aus Tabelle V ist ersichtlich, daß das Nucleoproteid, welches mit der Kochmethode dargestellt worden, einen größeren

¹⁾ Woltering, Diese Zeitschrift, Bd. XXI.

Prozentgehalt an Fe enthält, als die mittels Ausziehens mit Chloroform- oder Ammoniakwasser erhaltenen.

Im ersten Versuche ist im Nucleoproteid, das mittels Auskochens dargestellt worden, 0,93 % Fe enthalten, in dem durch Ausziehen der Leber in Chloroformwasser erhaltenen aber 0,72 %, und 0,28 % finden sich in dem durch Ausziehen in Ammoniakwasser gewonnenen Nucleoproteid. Im zweiten Versuch ergaben sich 1,4 % nach Auskochen, 0,35 % nach Ausziehen mit Ammoniakwasser, 0,64 % nach Ausziehen mit Chloroformwasser.

Phosphor ist in den beiden durch Kochen dargestellten Nucleoproteiden in annähernd gleichem Verhältnisse vorhanden wie gewöhnlich; die durch Ammoniak- resp. Chloroformwasser-Extraktion gewonnenen Nucleoproteide weisen einen viel geringeren P-Gehalt auf. Es wurde ferner der Gesamtstickstoffgehalt und der Purinstickstoff der durch Auskochen und Fällung mit Essigsäure resp. Weinsäure erhaltenen Nucleoproteide bestimmt.

Die Purinkörper wurden mit Silberlösung ausgefällt. Vorher wurde das Nucleoproteid, wie Burian¹⁾ für die Bestimmung des Purinstickstoffes in den Geweben empfiehlt, während mehrerer Stunden mit 0,5 %iger Schwefelsäure am Rückflußkühler gekocht und weiter behandelt. Der gesamte Stickstoff wurde nach der Methode von Kjeldahl bestimmt. Die erhaltenen Werte sind folgende:

1. Mit Essigsäure ausgefälltes Nucleoproteid.

Gesamtstickstoff: Nucleoproteid 0,5209 g = 45,5 ccm $n/_{10}$ -H₂SO₄ = 0,0637 g N = 12,2 % N.

Purinstickstoff: Nucleoproteid 0,5443 g = 14,5 ccm $n/_{10}$ -H₂SO₄ = 0,0203 g N = 3,73 % N.

2. Mit Weinsäure ausgefälltes Nucleoproteid.

Gesamtstickstoff: Nucleoproteid 0,4311 g = 35,9 ccm $n/_{10}$ -H₂SO₄ = 0,0502 g N = 11,64 % N.

Purinstickstoff: Nucleoproteid 1,1678 g = 29,2 ccm $n/_{10}$ -H₂SO₄ = 0,0408 g N = 3,48 % N.

¹⁾ Burian u. Hall, Diese Zeitschrift, Bd. XXXVIII.

Aus vorliegenden Untersuchungen geht folgendes hervor:

Aus Schweinsleber wird mittels Auskochen und Ausfällung mit Essigsäure oder Ausfällung mit Weinsäure (also in diesem letztern Falle mit der gleichen Methode, die Schmiedeberg für die Darstellung des Ferratins anwendet) eine Substanz dargestellt, welche die Eigenschaften des Nucleoproteids besitzt; sie enthält: Purinstickstoff 3,48 · 3,73 ‰, Pentose, eine Phosphorgruppe.

Dieses Nucleoproteid hat einen Prozentgehalt an Eisen, welcher beträchtliche Schwankungen aufweist; von einem Minimum von 0,54 zu einem Maximum, nach Reinigung mit verdünntem Ammoniak, von 3,59.

Der Prozentgehalt des Eisens im so dargestellten Nucleoproteid ist höher als der, welchen das mit Ausziehen in Ammoniak-Chloroformwasser dargestellte Nucleoproteid aufweist.

Der nur einmal unter allen vorgenommenen Bestimmungen aufgefundene maximale Prozentgehalt an Eisen (3,59 ‰) ist bedeutend niedriger als das von Schmiedeberg angegebene Mittel des Prozentgehaltes an Eisen des Ferratins (ca. 6 ‰).

