

# Quantitative Rückbildung zugesetzter Harnsäure in Leberextrakten nach vorausgegangener Zerstörung.

Von

Professor **M. Ascoli** und Assistenten Dr. **G. Izar**.

---

(Aus dem Institute für spezielle Pathologie innerer Krankheiten der K. Universität Pavia:  
Professor M. A s c o l i.)

(Der Redaktion zugegangen am 12. Januar 1909.)

---

Schon seit geraumer Zeit haben wir folgende Beobachtung gemacht: Wird ein Leberextrakt, der eine bestimmte Menge zugesetzter Harnsäure restlos zerstört hat, bei Abschluß von Luft einige Zeit im Brutschrank sich selbst überlassen, so tritt die zerstörte Harnsäure allmählich wieder auf. Durch Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse, Bestimmung der nach stattgefundenener  $\bar{U}$ -Zerstörung noch vorhandenen Nucleinbasen und Vergleich mit der in parallelen Kontrollversuchen, in denen der  $\bar{U}$ -Zusatz ausblieb, wiedergefundenen Harnsäure konnte ausgeschlossen werden, daß die wiederaufgetretene Menge derselben auf oxydativem Wege durch Spaltung der Nucleine entstanden sei. Wir gehen ohne weiteres zur Beschreibung und Wiedergabe unserer Versuche über.

Bezüglich der Technik verfahren wir im wesentlichen nach Wiener<sup>1)</sup> und Burian.<sup>2)</sup> Folgende Einzelheiten mögen hervorgehoben werden. Mit Ausnahme von Versuch 6, in welchem Rinderleber gebraucht wurde, kam vom Schlachthof frisch bezogene Kalbsleber zur Verwendung. Zu den Leberbreiextrakten wurde 10<sup>0/00</sup> Toluol und 10<sup>0/00</sup> Chloroform hinzugesetzt und der Zusatz nach Unterbrechung der Luftdurchleitung in den weiter bei Abschluß von Luft im Brutschrank aufbewahrten Proben erneuert. Die Kolaturen wurden nach Bedarf mit den jeweilig erforderlichen geringen Mengen destillierten Wassers auf das zur Verteilung in die ge-

---

<sup>1)</sup> Zeitschrift f. experim. Pathol. u. Pharmak., Bd. XL, S. 42.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLIII.

wünschten Portionen nötige Volumen aufgefüllt. Das einbasische harnsaure Natrium stammt von der Firma Merck, das zweibasische in Versuch 6 von Kahlbaum. Zum Nachweis, resp. Bestimmung der  $\bar{U}$  wurden die Eiweißkörper durch Hitzekoagulation unter Zusatz von 5%iger Essigsäure bis zu schwach saurer Reaktion entfernt, die Gerinnsel mit 10% NaOH bis zu deutlich alkalischer Reaktion versetzt, umgerührt, darauf zum zweiten Male mit Essigsäure schwach angesäuert, gekocht und die 2 Filtrate vereinigt. Weiter verfahren wir wie üblich nach Ludwig-Salkowski. Der qualitative Nachweis der  $\bar{U}$  erfolgte mit der Murexidprobe, der mikroskopischen Untersuchung und nach ihrem Bekanntwerden auch mit der Probe von Ganassini.<sup>1)</sup> Zur Berechnung der zugesetzten  $\bar{U}$ -Menge wurde jedesmal in einem Teil der verwendeten Lösung von harnsaurem Na die  $\bar{U}$  für sich bestimmt und daraus die zur Kolatur zugesetzte Gesamtmenge berechnet.

Versuch 1. 500 g Leberbrei + 2 l 0,85%iger NaCl-Lösung kommen auf 1 Stunde in den Brutschrank bei 37°, auf eine weitere Stunde in den Schüttelapparat. Der Extrakt wird durch Leinwand koliert und 100 ccm folgender Lösung hinzugesetzt: 5 g harnsaures Na + 30 n-NaOH + 250 ccm H<sub>2</sub>O (100 ccm enthalten 1,212 g  $\bar{U}$ ). Darauf kommt der Extrakt in einem Kolben auf 48 Stunden unter ständiger Durchleitung eines kräftigen Luftstromes in den Brutschrank; nach Ablauf dieser Zeit ist die  $\bar{U}$  vollständig verschwunden. 600 ccm (=  $\frac{1}{4}$ ) des Auszuges werden nun nach erneutem Toluolzusatz auf weitere 36 Stunden in mit Gummistöpsel gut verschlossenem Gefäße in den Brutschrank gestellt. Die Analyse ergab nun einen Gehalt von 385 mg  $\bar{U}$ ; der ursprüngliche Zusatz betrug (für 600 ccm) 305 mg.

Versuch 2. 1000 g Leberbrei + 3 l 0,85%iger NaCl-Lösung: Extrakt wie oben + 5 g harnsaures Na gelöst in der gewöhnlichen Menge Natronlauge (= 3,17 g  $\bar{U}$ ); Dauer der Luftdurchleitung 36 Stunden; darauf Teilung in 2 Portionen (A, B). In Portion A wird die  $\bar{U}$  sofort bestimmt; ihre Menge beträgt 19 mg; in Portion B nach weiteren 36 Stunden Aufbewahrung in verschlossenem Gefäße bei 37°:  $\bar{U} = 1,608$  g.

Wir verfügen über eine ganze Reihe weiterer Versuche mit gleichem Resultate; es hat keinen Zweck, sie alle ausführlich anzuführen, um so mehr, als wir Gelegenheit haben werden, noch zahlreiche Beispiele im Zusammenhange mit den folgenden Ausführungen anzugeben. Es mögen nur noch zwei Versuche beschrieben werden, in denen zum Zwecke der  $\bar{U}$ -Zerstörung Sauerstoff anstatt Luft durch die Extrakte geleitet wurde.

Versuch 3. Extrakt von 500 g Leberbrei + 5 g harnsaures Na gelöst in 20 ccm n-Natronlauge und Wasser; Durchleitung von 100 l O

<sup>1)</sup> Bollettino della Soc. med. chir. di Pavia, 1908.

in 12 Stunden; Teilung in 2 gleiche Portionen. Die erste, sofort verarbeitet, enthält 0,892 g  $\bar{U}$ ; die zweite, nach weiteren 48 Stunden Aufenthaltes im Brutschrank in verschlossenem Gefäße, 1,979 g  $\bar{U}$ .

Versuch 4. Extrakt von 500 g Leberbrei + 3 g harnsaures Na gelöst in der nötigen Menge n-Natronlauge und Wasser; Durchleitung von 200 l O in 24 Stunden; Teilung in 2 gleiche Portionen. Die erste, sofort verarbeitet, enthält 18,3 mg  $\bar{U}$ ; die zweite, nach 72 Stunden weiteren Aufenthaltes im Brutschrank in verschlossenem Kolben, 1,253 g  $\bar{U}$ .

Die Untersuchungen von Bellazzi<sup>1)</sup> in diesem Institute haben gezeigt, wie schwer es gelingt, bei den Versuchen mit Durchleitung von (auch filtrierter) Luft durch Leberextrakte Fäulnis zu vermeiden. Um zu erforschen, ob das Wiederauftreten von Harnsäure tatsächlich auf die Wirkung des Leberextraktes zurückzuführen und das Resultat nicht durch Fäulnisvorgänge getrübt ist, wurde deshalb in folgendem Versuche 5 die Temperatur des Brutschrankes auf 57° erhöht,<sup>2)</sup> wobei die sowohl nach stattgefundener Luftdurchleitung als zu Ende des ganzen Versuches auf Agar und Bouillon angelegten Kulturen steril blieben. Trotzdem war das Endresultat dasselbe wie in den früheren Versuchen.

Versuch 5. 500 g Leberbrei + 2500 0,85%iger NaCl-Lösung; Extrakt wie oben versetzt mit 1,5 g harnsaurem Na gelöst in 20 ccm n-Natronlauge und Wasser; Dauer der Luftdurchleitung 20 Stunden; Temperatur des Brutschrankes 57°.  $\bar{U}$ -Bestimmung in 1500 Extrakt ergibt 38,1 mg; in 250 ccm 6,5 mg. Die übrigen 1500 kommen auf 48 Stunden in verschlossenem Gefäße in den Brutschrank bei 39°; nach Ablauf dieser Zeit enthalten sie 390 mg  $\bar{U}$ .

Das erhaltene Produkt wurde (ohne vorherige Umkrystallisierung nach Horbaczewski) der Elementaranalyse unterworfen. Herr Dr. Monti, dem wir für die gütige Ausführung derselben zu Dank verpflichtet sind, übergab uns folgenden Befund:

Leicht hellgelbes krystallinisches Pulver; auf der Platinplatte erhitzt, hinterläßt es keine Asche. Im Glasrohre zersetzt es sich, ohne zu schmelzen, und entwickelt Dämpfe, die nach Blausäure riechen (Reagenzpapier nach Schönbein-Pagenstecher wird gebläut). Löslich in  $H_2SO_4$ , ohne sich zu zersetzen; bei Verdünnung mit  $H_2O$  fällt es als weißes krystallinisches Pulver wieder aus. Die Elementaranalyse des 48 Stunden im Exsikkator über  $H_2SO_4$  aufbewahrten Präparates ergibt:

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LVII.

<sup>2)</sup> Die Temperatur der Extrakte bleibt natürlich infolge der Luftdurchleitung nicht unerheblich hinter dieser zurück.

I. 0,101 g ergaben 29 ccm N bei 14° und 761 mm Druck. N gefunden = 33,30 %; N berechnet als  $C_5H_4N_4O_3 = 33,33\%$ .

II. 0,0888 g ergaben 29 ccm N bei 15° und 765,5 mm Druck. N gefunden = 33,11 %; N berechnet als  $C_5H_4N_4O_3 = 33,33\%$ .

I. 0,1935 g Substanz geben 0,0416 g  $H_2O$  und 0,265 g  $CO_2$ .

II. 0,1445 g » » 0,0312 » » » 0,1942 » »

Gefunden:

Berechnet als  $C_5H_4N_4O_3$ :

	I.	II.	
H	2,38 %	2,39 %	2,38 %
C	37,34 %	36,67 %	35,71 %

Daß das gewonnene Produkt tatsächlich  $\bar{U}$  darstellt, wurde durch die Elementaranalyse auch in folgendem Versuche 6 sichergestellt.

Versuch 6. 1000 g Rinderleberbrei + 3 l 0,85 % iger NaCl-Lösung. Kolatur + 175 ccm (= 0,039 g  $\bar{U}$ ) folgender Lösung: 5 g harnsaurer Na + 35 n-NaOH aufgefüllt mit  $H_2O$  auf 200 ccm. Dauer der Luftdurchleitung 48 Stunden. Teilung in 2 Portionen (A, B): A sofort verarbeitet gibt keinen Niederschlag mit ammoniakalischer Silberlösung, Murexidprobe —; B nach weiteren 72 Stunden in verschlossenem Gefäße bei 37° enthält 1,503 g  $\bar{U}$ . Dieselbe wurde nach Horbaczewski gereinigt.

Die Elementaranalyse (Dr. Monti) ergab:

Stickstoff: 0,1704 g ergaben 30,4 ccm N bei 11° und 754 mm Druck.  
N = 33,30 %.

Kohlenstoff: 0,1784 g ergeben 0,236 g  $CO_2$ . C = 36,10 %.

Wasserstoff: 0,1784 » » 0,042 »  $H_2O$ . H = 2,67 %.

Die wiedergefundene  $\bar{U}$  konnte aber möglicherweise aus der Spaltung der noch nicht angegriffenen Nucleinstoffe des Lebergewebes abstammen. Schon die Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse ließ diese Möglichkeit kaum annehmbar erscheinen, da ja so hohe Mengen  $\bar{U}$ <sup>1)</sup> aus dieser Quelle schwerlich herrühren konnten. Endgültig widerlegt wird diese Auffassung durch folgende zwei Reihen von Kontrollversuchen: In der ersten (Versuch 7) wurden die nach der Luftdurchleitung im Leberextrakt noch enthaltenen Nucleinbasen bestimmt; sie betragen (in  $\bar{U}$  ausgedrückt) 114,2 mg, während nach 36 Stunden

<sup>1)</sup> Bezüglich der Menge der wiederaufgefundenen  $\bar{U}$  ist zu bemerken, daß dieselbe in einigen Versuchen hinter der ursprünglich zugesetzten Quantität zurückbleibt. Dieses Minus ist, den Resultaten der übrigen Versuche nach zu schließen, wahrscheinlich auf die zur vollständigen Rückbildung unzureichende Dauer der Versuche zurückzuführen.

weiteren Aufenthaltes in verschlossenem Gefäße im Brutschrank der Auszug einen Gehalt von 332 mg  $\bar{U}$  aufwies. Noch beweisender ist Versuch 11. Zweitens wurde folgende Kontrolle angesetzt (Versuch 8): Von zwei Portionen derselben Leberkolatur wurde die eine mit in Natronlauge gelöstem harnsaurem Na, die andere mit der gleichen Menge Natronlauge ohne harnsaures Na versetzt; die erste Portion erwies sich imstande, 1,462 g  $\bar{U}$  wiederzubilden, die zweite 6 mg allein. Es scheint uns mit aller Klarheit hervorzugehen, daß die wiedergefundene  $\bar{U}$  mit der zerstörten in Zusammenhang steht.

Versuch 7. 500 g Leberbrei + 2500 ccm 0,85%ige NaCl-Lösung; weitere Verarbeitung wie oben. Zusatz von 100 ccm (= 1,1872 g  $\bar{U}$ ) einer Lösung von 5 g zweibasischem harnsaurem Na (Kahlbaum) in 25 ccm n-NaOH + 175 H<sub>2</sub>O; Dauer der Luftdurchleitung 60 Stunden. Der Auszug wird dann in 5 Portionen von je 600 ccm geteilt; in Portion I wird die  $\bar{U}$ , in Portion II  $\bar{U}$  + Xanthinbasen (nach Salkowski) sofort, in Portion III und IV wird die  $\bar{U}$  nach wie üblich erneutem Toluol- und CHCl<sub>3</sub>-Zusatz und 36 Stunden weiteren Aufenthaltes im Brutschrank unter Abschluß von Luft bestimmt.

I.  $\bar{U} = 2,87$  mg.

II.  $\bar{U}$  + Xanthinbasen  $\bar{U} = 2.41$  mg + 114.2 mg (Basen in  $\bar{U}$  ausgedrückt).

III.  $\bar{U} = 332,4$  mg.

IV.  $\bar{U} = 331,4$  mg.

Der ursprüngliche  $\bar{U}$ -Zusatz betrug 296.8 mg (für 600 ccm Extrakt berechnet).

Versuch 8. 1000 g Kalbsleberbrei + 3 l 0,85%ige NaCl-Lösung.

A. 1500 ccm der wie gewöhnlich bereiteten Kolatur + 5 g harnsaures Na gelöst in 20 ccm n-NaOH (= 3,189  $\bar{U}$ ); B. weitere 1500 ccm derselben Kolatur werden mit 20 ccm n-NaOH allein (ohne Zusatz von harnsaurem Na) versetzt. Dauer der Luftdurchleitung durch beide Kolben 24 Stunden. Portion A wird in 2 gleiche Portionen geteilt ( $a_1, a_2$ );  $a_1$  enthält keine  $\bar{U}$  mehr;  $a_2$  kommt wie üblich auf weitere 36 Stunden in den Brutschrank bei 37°; sie enthält dann 1,462 g  $\bar{U}$ .  $B_2$  wird ebenfalls in 2 Portionen geteilt ( $b_1, b_2$ ).  $b_1$  enthält keine  $\bar{U}$  mehr;  $b_2$  wird wie  $a_2$  behandelt und ergibt  $\bar{U} = 6$  mg.

Ein gleiches Resultat geht auch aus Versuch 11 hervor.

Endlich haben wir in Kontrollversuch 9 geprüft, wie sich eine einfache Lösung von harnsaurem Na gegenüber der Luftdurchleitung und der folgenden Aufbewahrung bei Abschluß von Luft verhält; es wurde im ersten Teile des Versuches ein

Verlust von nur 10,2 mg konstatiert; im zweiten Teile war der Verlust noch geringer (4,4 mg).

Versuch 9. 5 g harnsaures Na + 40 ccm n-NaOH + 185 ccm H<sub>2</sub>O. 25 ccm der Lösung enthalten 349,3 mg  $\bar{U}$ . 50 ccm werden mit H<sub>2</sub>O auf 100 ccm aufgefüllt und durch dieselben im Brutschrank während 48 Stunden ein Luftstrom durchgeleitet. Darauf Teilung in 2 Portionen; in der ersten wird die  $\bar{U}$  sofort bestimmt = 339,1 mg; in der zweiten wird die  $\bar{U}$  nach weiteren 24 Stunden Aufenthaltes im Brutschrank bestimmt = 334,7 mg.

Einige Versuche haben wir der Erforschung des Einflusses der Kohlensäure und des Wasserstoffs auf die Rückbildung der Harnsäure sowie des vorherigen Kochens der Extrakte gewidmet. Zu ersterem Zwecke wurde im zweiten Teile der Versuche durch die Kolaturen ein CO<sub>2</sub> resp. H-Strom durchgeleitet; bezüglich der technischen Einzelheiten verweisen wir auf die Mitteilung von Bellazzi.<sup>1)</sup> Es erhellt aus folgenden Protokollen (10, 11), daß besonders die Kohlensäure den Vorgang günstig beeinflusst. Aus den früher angeführten Gründen erscheint es jedoch angebracht, das Resultat durch Wiederholung des Versuches bei höherer Temperatur zu erhärten. Die Temperatur von 120° beraubt die Extrakte der Eigenschaft,  $\bar{U}$  wiederzubilden.

Versuch 10. 700 g Leberbrei + 2500 ccm 0,85%iger NaCl-Lösung, weitere Verarbeitung wie oben. 800 ccm der Kolatur + 42 ccm H<sub>2</sub>O + 8 ccm n-NaOH. Dauer der Luftdurchleitung 48 Stunden; Teilung in 2 gleiche Portionen (A, B); A sofort verarbeitet enthält keine  $\bar{U}$  mehr; B nach weiteren 12 Stunden im Brutschrank unter Abschluß von Luft ergibt 5,7 mg  $\bar{U}$ .

Den übrigen 2000 ccm werden 125 ccm (= 1,697 g  $\bar{U}$ ) folgender Lösung hinzugesetzt: 5 g harnsaures Na + 40 ccm n-NaOH + 185 H<sub>2</sub>O. Dauer der Luftdurchleitung 48 Stunden; darauf Teilung in 5 Portionen von je 400 ccm (C, D, E, F, G).

C (die Bestimmung erfolgt sofort) enthält 5,5 mg  $\bar{U}$ .

D (nach 12 Stunden weiteren Aufenthaltes im Brutschrank in verschlossenem Gefäße) 48,8 mg  $\bar{U}$ .

E (= D, aber vorher im Autoklaven auf 120° erhitzt) Murexidprobe —.

F (nach 12 Stunden Durchleitung eines H-Stromes im Brutschrank) 53,4 mg  $\bar{U}$ .

<sup>1)</sup> loc. cit.

G (nach 12 Stunden Durchleitung eines  $\text{CO}_2$ -Stromes im Brutschrank)  
93,5 mg  $\bar{U}$ .

Versuch 11. 400 g Leberbrei + 800 ccm 0,85%iger NaCl-Lösung.  
Zum wie angegeben bereiteten Extrakte 60 ccm (= 0,865 g  $\bar{U}$ ) einer Lösung  
von 5 g harnsaurem Na in 50 ccm n-NaOH + 275  $\text{H}_2\text{O}$  hinzugesetzt. Dauer  
der Luftdurchleitung 72 Stunden. Teilung in 4 gleiche Portionen (A, B, C, D).

In Portion A  $\bar{U}$  sofort bestimmt = 19,9 mg.

In Portion B  $\bar{U}$  + Xanthinbasen sofort nach Salkowski bestimmt  
= 16,5 mg  $\bar{U}$  + 199,6 mg Basen in  $\bar{U}$  ausgedrückt.

In Portion C  $\bar{U}$  nach weiteren 72 Stunden im Brutschrank unter  
Durchleitung von  $\text{CO}_2$  = 167,5 mg.

In Portion D  $\bar{U}$  + Xanthinbasen wie C = 162 mg + 202,2 mg  
Basen in  $\bar{U}$  ausgedrückt.

\* \* \*

Es erhob sich nun die Frage, aus welchem Materiale die  
Harnsäure wieder aufgebaut wird. Da auf Grund der voraus-  
gehenden Beobachtungen ein Zusammenhang mit der zerstörten  
begründet erschien, war es geboten, unser Augenmerk zunächst  
auf die Zersetzungsprodukte der fermentativen  $\bar{U}$ -Spaltung zu  
lenken. Trotz der Bestrebungen namhafter Autoren sind unsere  
diesbezüglichen Kenntnisse noch mangelhaft; wir verweisen  
bezüglich des heutigen Standes dieser Frage und der neuesten  
Ergebnisse auf die interessanten Arbeiten von Wiechowski.<sup>1)</sup>  
Nach diesem Autor wird die  $\bar{U}$  durch überlebende Rinderniere  
sowie durch Hundeleber zu Allantoin oxydiert.

Bevor aber zur Prüfung der Fähigkeit einzelner Spaltungs-  
produkte, die  $\bar{U}$  wiederaufzubauen, geschritten wurde, war es an-  
gezeigt, zu entscheiden, ob nicht schon durch das einfache Kochen  
zum Zwecke der Enteiweißung die Extrakte diese Eigenschaft ein-  
büßen. Die Beantwortung dieser Frage finden wir in folgendem

Versuch 12. Brei von 1000 g Leber + 3 l 0,85%iger NaCl-Lösung.  
3000 ccm Extrakt geteilt in 3 gleiche Portionen (A, B, C). A versetzt  
mit 150 ccm (= 2,5125 g  $\bar{U}$ ) folgender Lösung: 5 g harnsaures Na + 40  
n-NaOH aufgefüllt auf 200 ccm mit destilliertem  $\text{H}_2\text{O}$ . Portion B versetzt  
mit 30 ccm n-NaOH und 120 ccm destilliertem  $\text{H}_2\text{O}$ . Portion C versetzt  
mit 150 ccm destilliertem  $\text{H}_2\text{O}$ . Dauer der Luftdurchleitung 72 Stunden.  
Darauf wird A sofort wie üblich koaguliert, das Filtrat mit 0,85%iger  
NaCl-Lösung auf 2250 aufgefüllt, mit 10% NaOH alkalisiert und in 3  
gleiche Teile à 750 ccm geteilt. In dem ersten wird die  $\bar{U}$  sofort be-

<sup>1)</sup> Hofmeisters Beiträge, Bd. IX.

stimmt: kein Niederschlag mit der ammoniakalischen Silberlösung. Die übrigen 2 Teile werden zu B<sub>2</sub> resp. C<sub>2</sub> hinzugesetzt.

B mit 0,85%iger NaCl-Lösung auf 1200 ccm aufgefüllt wird in 3 gleiche Teile geteilt.

B<sub>1</sub> sofort bearbeitet ergibt: Murexidprobe und Ganassinische Reaktion —.

B<sub>2</sub> + 750 ccm 0,85%iger NaCl-Lösung (üblicher Toluol- und Chloroformzusatz) 72 Stunden im Brutschrank in verschlossenem Gefäße  $\bar{U} = 60,9$  mg.

B<sub>3</sub> + 750 ccm Filtrat A, 72 Stunden im Brutschrank in verschlossenem Gefäße  $\bar{U} = 350,0$  mg.

C wie B aufgefüllt auf 1200 ccm, wird ebenfalls in 3 gleiche Teile geteilt:

C<sub>1</sub> sofort verarbeitet ergibt: Murexidprobe und Ganassinische Reaktion —.

C<sub>2</sub> + 750 ccm 0,85%iger NaCl-Lösung, 72 Stunden im Brutschrank in verschlossenem Gefäße  $\bar{U} = 59,2$  mg.

C<sub>3</sub> + 750 ccm Filtrat A, 72 Stunden im Brutschrank in verschlossenem Gefäße  $\bar{U} = 496,0$  mg.

Nun war es an der Zeit, auch einzelne Substanzen heranzuziehen. Wir versuchten zunächst auf Grund der Befunde von Wiechowski, ob der Zusatz von Allantoin zu Leberextrakten sowohl bei Aufbewahrung in verschlossenem Gefäß als bei Durchleitung von H und von CO<sub>2</sub> bei 37° zur Bildung von  $\bar{U}$  führt; in anderen Experimenten war vorher durch die Auszüge 48 Stunden hindurch ein Luftstrom durchgeleitet worden, um die früheren Versuchsbedingungen tunlichst nachzuahmen. In keinem Falle erzielten wir positive Resultate; in Anbetracht der negativen Ergebnisse beschränken wir uns für diese und die folgenden Versuche auf die Anführung der Resultate und verzichten auf die weitläufige, detaillierte Wiedergabe der Protokolle.

Analoge Versuche und mit gleichem Ergebnisse wurden mit Uroxansäure angestellt.

Nicht glücklicher fiel eine Reihe von mühevollen Versuchen aus, in denen wir uns erfolglos bestrehten, aus den Leberkollaturen nach der Zerstörung größerer Mengen  $\bar{U}$  die Produkte, aus denen die Rückbildung derselben stattfindet, zu isolieren. Dazu wurden die durch ammoniakalische Silbernitratlösungen erhaltenen und von Ag wie üblich befreiten Fällungen, ferner die durch einfachen Zusatz von Silbernitrat gewonnenen Niederschläge (nach Entfernung des Silbers) herangezogen, und zwar

wurden sowohl wässerige wie alkoholische Auszüge derselben, sowie beide vereinigt, verwendet: ihr Zusatz zu Leberkolaturen, durch welche vorher während 48 Stunden Luft durchgeleitet worden war, führte nicht zur Bildung von  $\bar{U}$ . Das gleiche geschah mit den Extrakten aus Silbernitratniederschlägen nach ihrer Lösung in Ammoniak, Entfernung desselben im Vakuum und Reinigung durch wiederholte Fällung.

Endlich wurden in weiteren Versuchen die Eiweißkörper durch Phosphorwolframsäure sowie durch Tannin entfernt und die Extrakte nach Befreiung der überschüssigen Phosphorwolframsäure wie oben verarbeitet; wir hatten immer nur negativen Erfolg zu verzeichnen. Möglicherweise erleiden die gesuchten Spaltungsprodukte durch die Verarbeitung zwecks ihrer Isolierung Veränderungen oder Zersetzungen, die sie zum Wiederaufbau der  $\bar{U}$  ungeeignet machen, oder wird ein Teil derselben entfernt, welche Umstände jedoch nicht von weiteren Versuchen abhalten dürfen noch werden.

\* \* \*

Wenn wir die Deutung unserer Resultate ins Auge fassen, so gewinnt man auf den ersten Blick den Eindruck, daß ein reversibler Prozeß vorliege. Bei näherer Betrachtung tauchen jedoch gegen diese Annahme schwerwiegende Bedenken auf. Eine eingehende Diskussion wäre jedoch verfrüht, da ja die endgültige Beurteilung schwerlich getroffen werden können wird, bevor die Spaltungsprodukte der  $\bar{U}$  berücksichtigt werden können, über die wir, wie schon erörtert, noch ungenügend unterrichtet sind. Daß jedenfalls komplizierte Verhältnisse vorliegen, beweist folgende Tatsache, die man auch gegen die Annahme eines einfachen umkehrbaren Vorganges in engerem Sinne auslegen könnte. Bekanntlich besitzen auch Nierenextrakte  $\bar{U}$  zerstörende Eigenschaften; wir prüften nun, ob ihnen ebenfalls die Fähigkeit zukommt, die zerstörte  $\bar{U}$  bei Abschluß von Luft wieder aufzubauen. Wie Versuch 13 zeigt, ist dies aber nicht der Fall. Versuche mit Milzextrakt, eventuell mit Milzextrakt + Nierenextrakt sind in Aussicht genommen.

Versuch 13. 500 g Kalbsnierenbrei + 21 0,85%iger NaCl-Lösung. Kolatur + 200 ccm (= 1,464  $\bar{U}$ ) folgender Lösung: 3 g harnsaurer Na

+ 20 ccm n-NaOH mit H<sub>2</sub>O aufgefüllt auf 250 ccm. Dauer der Luftdurchleitung 50 Stunden. Teilung in 2 gleiche Portionen (A, B); A, sofort verarbeitet, enthält keine  $\bar{U}$  mehr; B, nach weiteren 72 Stunden im Brutschranke in verschlossenem Gefäße: kein Niederschlag mit ammoniakalischer Silberlösung; Murexidprobe negativ.

Der Kernpunkt der vorliegenden Untersuchungen scheint uns in dem Nachweis zu gipfeln, daß ein Prozeß, zu dessen Vollziehung die Anwesenheit von O unbedingt erforderlich ist, auch wenn er schon abgelaufen ist, im Endeffekte rückläufig werden kann, sofern der Sauerstoff entzogen wird. Es ist hier an die bekannten Versuche von Bunge und Schmiedeberg,<sup>1)</sup> Schmiedeberg<sup>2)</sup> bestätigt von Berninzone<sup>3)</sup> unter der Leitung von F. Bottazzi, Kochs,<sup>4)</sup> Bashford und Kramer,<sup>5)</sup> Abelous und Ribaut<sup>6)</sup> zu erinnern, welche die Synthese von Benzoessäure und Glykokoll zu Hippursäure durch das Nierenparenchym in Gegenwart von freiem Sauerstoff nachwiesen und andererseits fanden, daß die Niere Hippursäure in die genannten Spaltungsprodukte zu zerlegen vermag.

Es liegt hier ein prägnantes Reagenzglasparadigma vor, bei welchem unter extremen Versuchsbedingungen — O-Durchleitung und O-Abschluß — der entgegengesetzte Effekt in bezug auf einen so eminent bedeutenden Prozeß wie jener der  $\bar{U}$ -Bildung erzielt wird, indem bei O-Anwesenheit  $\bar{U}$ -Zerstörung, bei O-Abschluß Rückbildung desselben stattfindet.

Es wäre verlockend, diese Vorgänge mit dem  $\bar{U}$ -Umsatze im lebenden Gewebe bei verschiedener O-Spannung in Zusammenhang zu bringen, und es würden sich aus dieser Betrachtungsweise manche Berührungspunkte in physiologischer, als besonders in pathologischer Beziehung ergeben. Wir glauben aber, auf derartige Rückschlüsse besser zu verzichten, um der weiteren experimentellen Forschung in keiner Weise vorzugreifen.

<sup>1)</sup> Arch. f. exp. Pathol. und Pharmakol., Bd. VI.

<sup>2)</sup> Ibidem, Bd. XIV.

<sup>3)</sup> Bolletino Accad. med. di Genova, Bd. XVI.

<sup>4)</sup> Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. XX.

<sup>5)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXXV.

<sup>6)</sup> C. r. Soc. de Biol., 1900.