

Über die stickstoffhaltigen Extraktivstoffe der Leber.

Von

J. Smorodinzew.

(Aus dem medizinisch-chemischen Laboratorium der Universität Moskau.)
(Der Redaktion zugegangen am 8. Juli 1912.)

In dem wässerigen aus der Leber dargestellten Extrakte hat man die Gegenwart von folgenden 14 stickstoffhaltigen Substanzen konstatiert: Leucin,¹⁾ Taurin,²⁾ Cystin,³⁾ Rhodanwasserstoffsäure,⁴⁾ Harnsäure,⁵⁾ Xanthin,⁶⁾ Hypoxanthin,⁷⁾ Gerontin,⁸⁾ Kreatinin,⁹⁾ Harnstoff,¹⁰⁾ Dipentosamin, Diacetyldipentosamin,¹¹⁾ Jecorin¹²⁾ und Lecithin.¹³⁾

¹⁾ Liebig, Chem. Briefe, 3. Aufl., S. 453 (1851); Gorup-Besanez, Annalen, Bd. 98, S. 1 (1856).

²⁾ Städeler u. Frerichs, Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 73, S. 46, (1858).

³⁾ Scherer, Jahresber. 1857, zit. Ascher-Spiro, Ergebnisse d. Physiol., Bd. 1, S. 23; Drechsel, Zeitschr. f. Biologie, Bd. 33, S. 85 (1896); Offer, Hofmeisters Beiträge, Bd. 8, S. 400 (1906).

⁴⁾ Abderhalden, Lehrbuch d. phys. Chem., 2. Aufl., S. 343 (1909).

⁵⁾ Cloëtta, Annalen, Bd. 99, S. 289 (1856); Städeler und Frerichs, l. c.; Scherer, Annalen, Bd. 107, S. 314 (1859); Abeles, Wien. med. Jahrbüch., 1887, S. 479; Meissner, Zeitschr. f. rat. Med., Bd. 31, S. 144, 234, zit. Gorup-Besanez, Lehrbuch d. phys. Chemie, 1878, S. 715; Schröder, Malys Jahresber., Bd. 17, S. 148 (1887).

⁶⁾ Almén, Journ. f. prakt. Chem., Bd. 96, S. 98 (1866).

⁷⁾ Scherer, Annalen, Bd. 107, S. 314 (1859).

⁸⁾ Grandis, Rend. della R. Accad. dei Lincei, 1890, S. 6, 213, 230, zit. Malys Jahresber., Bd. 20, S. 276 (1890).

⁹⁾ Munk, Arch. d. ges. Physiol., Bd. 11, S. 108 (1875); Gottlieb u. Stangassinger, Diese Zeitschrift, Bd. 55, S. 330 (1908). In keinem von den älteren und neueren Lehrbüchern, die ich durchgesehen, wird Kreatinin unter den Extraktivstoffen der Leber genannt.

¹⁰⁾ Städeler u. Frerichs, l. c.; Städeler, Journ. f. prakt. Chem., Bd. 76, S. 58 (1859); Meissner, l. c.; Munk, l. c.; Picard, Compt. rend., Bd. 87, S. 533 (1878); Gscheidlen, Malys Jahresber., Bd. 1, S. 213 (1871); Kaufmann, Compt. rend. soc. biolog., Bd. 46, S. 371 (1896); Arch. de physiol., Bd. 26, S. 531 (1896); Gottlieb, Arch. f. exp. Pathol., Bd. 42, S. 238; Schöndorf, Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. 74, S. 307 (1899).

¹¹⁾ Offer, Hofmeisters Beiträge, Bd. 8, S. 399 (1906).

¹²⁾ Drechsel, Journ. f. prakt. Chem., Bd. 33, S. 425 (1886); Zeit-

Da es während der letzten fünfzig Jahre keine systematische Untersuchung der Extraktivstoffe der Leber veröffentlicht wurde, benutzte ich Herrn Prof. Dr. Wl. Gulewitschs Vorschlag, eine solche zu unternehmen, und bediente mich zu dieser unter seiner Leitung ausgeführten Forschung der von ihm und seinen Mitarbeitern ausgearbeiteten Methode.¹⁾

Erste Untersuchung.

Aus 18 kg der Leber eines frischgeschlachteten Ochsen wurde durch Erwärmen während 20—30 Minuten mit kochendem Wasser ein Extrakt bereitet, welches nach der Behandlung mit neutralem Bleiacetat und dem Eindampfen der entbleiten Flüssigkeit mit einer konzentrierten Phosphorwolframsäurelösung gefällt wurde.

Den Silberniederschlag²⁾ dieser Portion untersuchte ich zugleich mit der entsprechenden Fraktion der zweiten Portion des Leberextrakts.

I. Silberbarytniederschlag. Carnosin fehlte in dieser Fraktion. Es wurde nur das Vorhandensein von Kreatinin mittels der Reaktionen von Jaffé, Weyl und Salkowski konstatiert.

Die aus dem II. Silberbarytniederschlag erhaltene Substanz wurde mit Weingeist extrahiert. Die Gegenwart von Kreatinin im weingeistigen Extrakt wurde durch die obenerwähnten Reaktionen erwiesen. Den im Alkohol ungelöst gebliebenen Teil löste ich in wenig Wasser und fällte mit kon-

schrift f. Biologie, Bd. 33, S. 85 (1896); Baldi, Malys Jahresber., Bd. 18, S. 284 (1887); Manasse, Diese Zeitschrift, Bd. 20, S. 478 (1895); Meinertz, Diese Zeitschrift, Bd. 44, S. 371 (1905); Siegfried u. Mark, Diese Zeitschrift, Bd. 46, S. 492 (1905); Waldvogel u. Tintemann, Diese Zeitschrift, Bd. 47, S. 129 (1906); Baskoff, Diese Zeitschrift, Bd. 57, S. 395 (1908); Bd. 62, S. 162 (1909).

¹⁹⁾ Heffter, Arch. f. exp. Pathol., Bd. 28, S. 97 (1889); Noël Paton, Journ. of Physiol., Bd. 19, S. 167 (1896); Balthazard, Compt. rend. soc. biol., Bd. 53, S. 922 (1901); Nerking, Biochem. Zeitschr., Bd. 10, S. 193 (1908).

¹⁾ Thierfelder, Hoppe-Seyler's Handbuch d. physiol. u. pathol. chem. Analyse, 1909, S. 758.

²⁾ Die Fraktionen benenne ich nach Skworzow, Diese Zeitschrift, Bd. 68, S. 30 (1910).

zentrierter wässriger Pikrinsäurelösung. Das erhaltene Pikrat, 0,15 g, schmolz bei 198°. Nach dem Umkrystallisieren aus heißem Wasser fiel 0,1 g Pikrat mit dem Schmelzpunkt 200° aus. Aus den Mutterlaugen wurden noch 0,2 g Pikrat mit dem Schmelzpunkt 192° erhalten. Ihrem Schmelzpunkt nach¹⁾ sollen alle diese Pikrate mit dem Methylguanidinpikrat identisch sein, welches bei der Untersuchung des Fleischextraktes gerade in diesem zweiten Silberbarytniederschlag vorhanden ist.

Wismutjodidniederschlag. Durch Fällung der weingeistigen Lösung dieser Fraktion mit einer alkoholischen Sublimatlösung wurden 105 g einer Sublimatverbindung erhalten und nach dem Eindampfen des Weingeistes, welcher zum Waschen dieses Niederschlags gedient hatte, schieden sich noch 45 g Sublimatverbindung aus. Folglich waren gegen 150 g Rohprodukt erhalten worden. Nach dem Umkrystallisieren aus heißem Wasser zerfiel dasselbe in vier Fraktionen: I. 47 g, II. 27 g, III. 16 g und IV. 26 g, im ganzen 116 g. Alle Fraktionen schmolzen bei 249—250° und erwiesen sich unter dem Polarisationsmikroskop als identisch. Sowohl diese wie auch alle anderen in dieser Arbeit angeführten krystallographischen Untersuchungen wurden von Herrn Prof. Dr. Wl. Gulewitsch ausgeführt, dem ich auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank ausspreche.

Ein Teil der Fraktion I der Sublimatverbindung wurde für die Analyse zweimal umkrystallisiert.

I. 6,7368 g der lufttrockenen Verbindung verloren im Vakuumexsikkator 0,0041 g an Gewicht. Folglich war kein Krystallwasser in dieser Verbindung enthalten.

II. 1,2619 g der im Vakuumexsikkator getrockneten Substanz gaben bei 19° und 752,5 mm Bar. 9,5 ccm N.

Gefunden:

II.
N 0,85%

Berechnet für

$C_5H_{14}NOCl + 6 HgCl_2$:
0,79%

¹⁾ Nach Wl. Gulewitsch (Diese Zeitschrift, Bd. 47, S. 475) liegt der Schmelzpunkt des Methylguanidinpikrats bei 201,5°, nach E. Fischer (Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 30, S. 2414) bei 200°, nach Brieger (Unters. über Ptomaine, T. III, S. 33) bei 192°.

Ferner wurde aus derselben Fraktion ein Chloroplatinat dargestellt, welches sich unter dem Polarisationsmikroskop als mit dem Cholinplatinchlorid identisch erwies. Somit war die Stelle des Carnitins, welches bei der Untersuchung des Fleischextraktes im Wismutjodidniederschlag vorhanden ist, hier durch Cholin ersetzt.

Das Wismutjodidfiltrat gab nach einer analogen Behandlung noch 17 g einer Sublimatverbindung. Aus dieser Fraktion wurde ein Chloroplatinat dargestellt, welches sich unter dem Polarisationsmikroskop als Cholinplatinchlorid erwies.

II. Phosphorwolframniederschlag. Beim Waschen des ersten Phosphorwolframniederschlags löste sich ein kleiner Teil auf. Dieser Teil wurde unter dem Namen «zweiter» Phosphorwolframniederschlag parallel mit dem Hauptteil untersucht. Der Silberniederschlag enthielt 0,35 g Purinbasen, deren Vorhandensein durch die Xanthin- und die Weidelsche Probe und durch die Fällbarkeit durch eine ammoniakalische Silbernitratlösung bewiesen wurde. Im I. Silberbarytniederschlag konstatierte ich das Vorhandensein von Kreatinin. Aus dem II. Silberbarytniederschlag konnten nach der üblichen Methode weder das Methylguanidinnitrat, noch das Methylguanidinpikrat isoliert werden und auch die Reaktionen des Kreatinins gaben ein negatives Resultat. Der Wismutjodidniederschlag lieferte 22,5 g der Sublimatverbindung des Cholins. Beim Umkrystallisieren aus Wasser fielen folgende Fraktionen aus: a) 13 g mit dem Schmelzpunkt $249-251^{\circ}$, b) 2 g, Sp. $249-251^{\circ}$, c) 5 g, Sp. $247-249^{\circ}$. Die Gesamtmenge der ungereinigten Sublimatverbindung aus beiden Phosphorwolframniederschlägen erreicht somit 189,5 g ($150 + 17 + 22,5$) — dies entspricht 13,0 g der freien Base und beträgt 0,072% des Gewichts des angewandten frischen Organs (18 kg). Ob ein Teil dieser verhältnismäßig großen Menge Cholin in der Leber vorgebildet vorhanden oder das gesamte von mir in der Leber gefundene Cholin durch die Spaltung von Lecithin usw. entstanden war, kann nur durch eine spezielle Untersuchung aufgeklärt werden.

Beim Isolieren des Cholins stellte es sich heraus, daß die Löslichkeit einiger Verbindungen des ungereinigten Cholins viel

bedeutender ist als die für die Verbindungen des reinen Cholins gefundene: 1. das phosphorwolframsaure Cholin löst sich in Wasser bei Gegenwart von essigsäuren Salzen bis zu 12% (von der Gesamtmenge der Sublimatverbindung — 189,5 g — waren in dem zweiten Phosphorwolframniederschlag 22,5 g enthalten); 2. das Cholin kann unter Umständen von dem Kraut-schen Reagens nicht vollständig gefällt werden (von 167 g der aus dem I. Phosphorwolframniederschlag gewonnenen Sublimatverbindung blieben 17 g im Wismutjodidfiltrat); 3. die Sublimatverbindung des ungereinigten Cholins ist in Weingeist löslich (von 150 g wurden 45 g = 30% aus dem Weingeist, der zum Waschen gedient hatte, isoliert).

Zweite Untersuchung.

Die Isolierung der Bestandteile des Leberextrakts wird in hohem Maße durch die Gegenwart einer großen Menge von Kolloiden erschwert, die sich beim Extrahieren der großen in Arbeit genommenen Menge des Organs und beim nachherigen Eindampfen anhäufen. Zur Entfernung der Kolloide benutzte ich das von Michaelis und Rona¹⁾ vorgeschlagene Umschütteln mit Kaolin; dieses entfernt quantitativ auch das Glykogen,²⁾ welches das Filtrieren der Niederschläge ebenfalls bedeutend erschwert. Ich verfuhr auf zweifache Weise: 1. das Extrakt aus 6 kg Leber (etwa 25 l) wurde 1½ Stunden lang mittels der Maschine mit Kaolin geschüttelt, wobei die Flüssigkeit mit soviel Essigsäure versetzt worden war, daß diese ungefähr 0,3% ausmachte; 2. das Extrakt einer anderen Leber (4,93 kg), etwa 26 l, wurde zuerst bis 5—6 l eingedampft und dann durch Umschütteln mit Kaolin und Essigsäure in demselben Verhältnis (0,3%) behandelt. Ein wesentlicher Unterschied war zwischen diesen Extrakten nicht zu bemerken und im weiteren wurden beide Extrakte, die sich frei von Eiweißstoffen und Glykogen erwiesen, zusammen der üblichen Behandlung unterworfen.

Der Silberniederschlag. Da in tierischen Organen (in

¹⁾ Biochem. Zeitschr., Bd. 5, S. 365 (1907).

²⁾ Biochem. Zeitschr., Bd. 7, S. 329 (1908).

den Nebennieren¹⁾) methylierte Purine bereits gefunden worden waren, so beschloß ich, Krüger und Salomons Methode²⁾ zur Untersuchung des Leberextrakts auf methylierte Purine zu benutzen; nur ganz am Anfang veränderte ich, um das Guanin nicht entschlüpfen zu lassen, das Verfahren dieser Autoren ein wenig. Um mit möglichst viel Material arbeiten zu können, vereinigte ich die 4 g wiegenden Purine mit den bei der ersten Untersuchung (S. 219) gewonnenen Purinen (6 g), verteilte sie in einer schwachen Ammoniaklösung und fällte sie mit einer ammoniakalischen Silbernitratlösung. Der Niederschlag wurde sorgfältig gewaschen, mit Salzsäure zersetzt und mehrere Male zur Entfernung der Salzsäure mit Alkohol bis zur Trockne abgedampft. Den Rückstand verteilte ich in wenig verdünnter Ammoniaklösung, filtrierte den ausgefallenen Niederschlag ab und ließ ihn aufs neue mit 2%iger Ammoniaklösung stehen. Zur Reinigung wurde der Niederschlag in Ätznatron (3,3%) aufgelöst und mit Essigsäure wieder ausgefällt. Es fiel aber eine so unbedeutende Menge davon aus, daß die Analyse nicht ausgeführt werden konnte und ich genötigt war, mich mit einigen charakteristischen qualitativen Reaktionen des Guanins zu begnügen.³⁾ Der Niederschlag wurde in Wasser unter Zusatz eines Tropfens sehr verdünnter Salzsäure aufgelöst; die so erhaltene Lösung lieferte Niederschläge mit Ferrocyankalium, Pikrinsäure und Metaphosphorsäure; bei der Xanthinprobe wurde nach dem Zusatz von Ätznatron eine schwach violette Färbung erhalten.⁴⁾ Die Art der Ausscheidung der Substanz, ihre Unlöslichkeit in Ammoniak, sowie diese vier Reaktionen beweisen somit zur Genüge das Vorhandensein von Guaninspuren in den Extraktivstoffen einer Leber, die keiner Säurehydrolyse unterworfen war. Almén (l. c.), der in einer Ochsenleber Guanin suchte, erhielt ein negatives Resultat.

Weiter wich ich bei der Trennung der Purine von Krüger

¹⁾ Okerblom, Diese Zeitschrift, Bd. 28, S. 60 (1899).

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 26, S. 373 (1898).

³⁾ Wulf, Diese Zeitschrift, Bd. 17, S. 480 (1893); Capranica, Diese Zeitschrift, Bd. 4, S. 233 (1880).

⁴⁾ Thierfelder, Hoppe-Seylers Handbuch, S. 143 (1909).

und Salomons Angaben gar nicht ab. In der Heteroxanthinfraktion erhielt ich 0,19 g eines krystallinischen Niederschlags und nach dessen Zersetzung 0,10 g freie Base. Die Xanthinprobe und die Weidelsche Reaktion fielen positiv aus.

III. 0,0420 g der bei 130° getrockneten Substanz gaben 14,0 ccm N bei 22° und 745 mm Bar.

Gefunden		Berechnet für	
	III.:	$C_5H_4N_4O_2$:	$C_6H_6N_4O_2$:
N	36,89%	36,85%	33,74%

Somit war in dieser Fraktion anstatt Heteroxanthin bloß Xanthin vorhanden. 0,19 g der Natriumverbindung des Xanthins¹⁾ entsprechen 0,15 g freie Base = 0,0005% des Lebergewichts.

In der Xanthinfraktion schieden sich 2,02 g eines krystallinischen Nitrats aus. Nach der Zersetzung mit Ammoniak und Reinigung mit Tierkohle blieben 0,590 g freie Base zurück.

IV. 0,0761 g Substanz, bei 130° getrocknet, gaben 26,7 ccm N bei 17° und 746 mm Bar.

V. 0,0589 g derselben Substanz lieferten 21,65 ccm N bei 19° und 744 mm Bar.

Gefunden		Berechnet für	
	IV.:	V.:	$C_5H_4N_4O$:
N	40,95%	40,99%	$C_5H_4N_4O_2$:
			41,18%
			36,85%

Somit erwies sich an Stelle des Xanthins Hypoxanthin, obgleich mit einer geringen Beimischung von Xanthin, da die Xanthinprobe und die Weidelsche Probe positiv ausfielen. Doch war diese Beimischung so gering, daß sie auf die Resultate der Analyse keinen merklichen Einfluß ausübte.

In der Fraktion des 1-Methylxanthins wurden 0,52 g Substanz erhalten.

VI. 0,0820 g Substanz, bei 130° getrocknet, gaben 30,6 ccm N bei 20° und 744 mm Bar.

Gefunden		Berechnet für	
	VI.:	$C_5H_4N_4O$:	$C_6H_6N_4O_2$:
N	41,42%	41,18%	33,74%

¹⁾ Balke, Journ. f. prakt. Chem. [2], Bd. 47, S. 560 (1893).

Auch hier wurde anstatt 1-Methylxanthins Hypoxanthin mit einer minimalen Beimischung von Xanthin erhalten, da auch diese Substanz positive Resultate bei der Xanthinprobe und der Weidelschen Probe gab.

Die Epiguaninfraktion enthielt nur sehr wenig Substanz und die qualitativen Reaktionen des Epiguanins (mit Kaliumbichromat, Pikrinsäure und die Weidelsche Probe) gaben ein negatives Resultat.

Im weiteren wurden successiv drei Fraktionen Adenin-pikrat erhalten: a 0,22 g, b 0,08 und c 0,01 g, im ganzen 0,31 g. Beim Umkrystallisieren verliert das Adenin-pikrat ein Molekül Krystallwasser, mit welchem es unmittelbar beim Zusatz von Pikrinsäure ausfällt:¹⁾

VII. 0,2059 g des umkrystallisierten Pikrats aus der Fraktion a verloren bei 105° nur 0,0005 g an Gewicht.

VIII. 0,0629 g der bei 105° getrockneten Substanz gaben 17,1 ccn N bei 21° und 754 mm Bar.

Gefunden	Berechnet für
VIII.:	$C_5H_5N_5, C_6H_3N_3O_7$;
N 30,44%	30,77%.

Die Substanz war somit nicht ganz rein; eine geringe Beimischung von Guanin- und Hypoxanthin-pikrat war nicht ausgeschlossen und konnte den Prozentgehalt des Stickstoffs im analysierten Pikrat herabsetzen. Die Bestimmung des Schmelzpunktes — 272° (korr.) bestätigte die Ergebnisse der Analyse²⁾. Aus diesem Grunde wurde die Fraktion a nochmals aus heißem Wasser unter Zusatz von Tierkohle umkrystallisiert, aber auch nach dem Umkrystallisieren stieg die Temperatur der Zersetzung nicht an. Doch kann dieses Präparat auch seiner Zersetzungstemperatur, geschweige denn seinem Stickstoffgehalt nach weder Hypoxanthin-pikrat, welches bei 200° schmilzt, noch Guanin-pikrat sein, dessen Schmelzpunkt noch unter 190° liegt. In der Literatur ist das Vorhandensein von Adenin im Extrakt

¹⁾ Krüger und Salomon, Diese Zeitschrift, Bd. 24, S. 392 (1897).

²⁾ Anstatt 279—281° (276° aus Harn: Krüger und Salomon, Diese Zeitschrift, Bd. 24, S. 392 [1897]).

einer nicht hydrolysierten Leber noch nicht konstatiert worden. 0,31 g Adeninpicrat entsprechen 0,12 g freie Base = 0,0004% des Lebergewichts.

In der Fraktion des salpetersauren Hypoxanthins fielen 0,17 g eines krystallinischen Niederschlags aus.

IX. 0,0879 g der lufttrocknen Substanz verloren bei 105° 0,0074 g.

Gefunden	Berechnet für
IX:	$C_5H_4N_4O \cdot HNO_3 + H_2O$:
H ₂ O 8,42%	8,30%.

X. 0,0724 g der bei 105° getrockneten Substanz gaben 23,3 ccm N bei 21° und 757 mm Bar.

Gefunden	Berechnet für
X:	$C_5H_4N_4O \cdot HNO_3$:
N 34,63%	35,18%.

Wegen Mangels an Material konnte die Substanz einer weiteren Reinigung nicht unterworfen werden.

Die Gesamtmenge des salpetersauren Hypoxanthins 2,02 g + 0,17 g = 2,19 g entspricht 1,37 g freie Base; hierher müssen noch 0,52 g des freien Hypoxanthins (S. 224) kommen, das macht zusammen 1,89 g freies Hypoxanthin = 0,007% des Lebergewichts.

Da in der Ochsenleber keine methylierten Purine zu finden waren (S. 224), so wurde der Versuch, Paraxanthin zu isolieren, nicht unternommen, um so mehr, als die verfügbare Substanz äußerst gering war.

Das Vorhandensein von Nucleinbasen im Extrakt der Ochsenleber ist somit bewiesen worden. Bis dahin gab es in der Literatur nur Hinweise auf das Vorhandensein von Purinbasen in einer Leber, die der Hydrolyse unterworfen worden war, wenigstens was das Guanin und Adenin betrifft; über das Xanthin und Hypoxanthin gibt es die Angaben von Almén (l. c.) und Städeler (l. c.), die Salomons¹⁾ Ansicht nach noch der Bestätigung bedürfen. Die von mir gegebenen Zahlen haben eine nur sehr angenäherte Bedeutung, da die von mir

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 2, S. 65 (1878).

angewandte Behandlungsmethode keine quantitative Ausscheidung der Purinbasen gestattet.¹⁾

Methylierte Purine habe ich im Extrakt der Ochsenleber nicht gefunden, wobei es sich erwies, daß die Trennung der Purine nach Krüger und Salomon nicht für eine jede Mischung von Purinkörper anwendbar ist; dies wurde übrigens schon von einem der Autoren anerkannt.²⁾

Der erste Silberbarytniederschlag. Nach einer mündlichen Mitteilung von Herrn Prof. Dr. Wl. Gulewitsch ist das Quecksilberoxydsulfat ein sehr gutes Fällungsmittel für Lösungen reinen Carnosins und ich benutzte dieses Reagens zur Aufklärung der Frage, ob das Leberextrakt Carnosin enthält oder nicht. Da das Vorhandensein von Harnstoff im Silberbarytniederschlag nicht ausgeschlossen ist, so erprobte ich das Verhalten des Harnstoffs zum Quecksilberoxydsulfat. Meine Versuche zeigten, daß 0,25%ige Lösungen reinen Harnstoffs mit diesem Salz noch merkliche Niederschläge geben, 0,20%ige Lösungen aber nicht mehr gefällt werden. Mit Berücksichtigung dieser Tatsache, sowie auch um das Kreatinin zu entfernen, welches von Quecksilberoxydsulfat ebenfalls gefällt wird, extrahierte ich die freien Basen dieser Fraktion mit heißem Alkohol. Im alkoholischen Extrakt wurde das Vorhandensein von Kreatinin konstatiert. Der in Alkohol ungelöst gebliebene Teil wurde mit Wasser verdünnt und nach dem Abdampfen der Spiritusreste mit einer gesättigten wässerigen Quecksilberoxydsulfatlösung gefällt. Der Quecksilberniederschlag wurde mit Schwefelwasserstoff zersetzt, die Flüssigkeit filtriert, mit Barythydrat und Kohlensäure behandelt und zur Trockne eingedampft, der Rückstand mit Wasser extrahiert und die erhaltene Flüssigkeit aufs neue eingedichtet. Auch nach längerem Stehen erfolgte keine Krystallisation, und es blieb nur eine ganz gering-

¹⁾ Phosphorwolframsäure im Verein mit Schwefelsäure fällen die Purinbasen nicht vollständig aus: Burian u. Hall, Diese Zeitschrift, Bd. 38, S. 374 (1903). Die phosphorwolframsauren Purine sind zum Teil in Wasser löslich: ein Teil der Purine erwies sich im II. Phosphorwolframniederschlag der I. Portion (S. 221).

²⁾ Krüger u. Schittenhelm, Diese Zeitschrift, Bd. 35, S. 159 (1902).

fügige Menge eines sehr dicken Sirups zurück. Die vom Quecksilberniederschlag abfiltrierte Flüssigkeit wurde auch mit Schwefelwasserstoff zersetzt, mit Baryt und Kohlensäure behandelt und mit Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure gefällt. Das Phosphorwolframat wurde auf die übliche Weise zersetzt, wobei die erhaltene Flüssigkeit einen den Diaminen eigentümlichen Geruch verbreitete. Die bis zur Sirupkonsistenz eingedickte Flüssigkeit wurde mit Salzsäure neutralisiert und mit Goldchlorid gefällt. Der erhaltene Niederschlag wog nur 0,15 g. Bei dem Versuch, das Chloraurat aus heißem Wasser umzukristallisieren, löste sich der größte Teil davon nicht, sondern zersetzte sich.

Der zweite Silberbarytniederschlag. Aus dieser Fraktion wurden zuerst 0,10 g eines Pikrats mit dem Schmelzpunkt 173—175° isoliert. Nach dem Umkristallisieren aus heißem Wasser fielen gelbe bei 201,5° schmelzende Krystalle aus; aus der eingedichteten Mutterlauge schieden sich orange-gelbe Krystalle mit dem Schmelzpunkt 200° aus.

XI. 0,0437 g der bei 105° getrockneten Substanz gaben 11,0 ccm N bei 23° und 755 mm Bar.

Gefunden	Berechnet für
XI:	$C_2H_7N_3 \cdot C_6H_3N_3O_7$:
N 27,92%	27,82%

Nach der Untersuchung von Herrn Prof. Dr. Wl. Gulewitsch bildete in diesen Krystallen die Auslöschungsrichtung mit der längeren Kante 20°, wie von demselben¹⁾ für das Pikrat des Methylguanidins gefunden wurde.

0,10 g Methylguanidin-pikrat entsprechen 0,024 g freie Base = 0,0002% des Lebergewichts (in der ersten Portion — 0,0005%).

Das Methylguanidin wurde bis jetzt als ein Bestandteil der Leber noch nicht beschrieben.

Sowohl der Wismutjodidniederschlag, wie auch das Wismutjodidfiltrat wurden auf die übliche Weise mit Bleioxydhydrat und Schwefelwasserstoff behandelt, die Flüssigkeiten

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 47, S. 474 (1906).

eingedampft, die Rückstände mit Alkohol extrahiert und die Extrakte wiederholt mit einer alkoholischen Sublimatlösung gefällt. Aus dem Wismutjodidniederschlage resultierten 23,8 g und aus dem Wismutjodidfiltrate 2,2 g Sublimatverbindungen, welche zusammen aus heißem Wasser umkrystallisiert wurden. Die sich nach dem Erkalten der Lösung ausgeschiedenen Krystalle schmolzen bei 247—249°, der Schmelzpunkt der aus der eingengten Mutterlauge erhaltenen Krystalle lag bei 249—251°.

Die zweite Mutterlauge wurde mit Schwefelwasserstoff zersetzt, mit Soda neutralisiert, eingedampft, der Rückstand mit Alkohol ausgezogen, die Lösung eingedampft, der Rückstand mit einigen Tropfen Wasser verdünnt und einer fraktionierten Fällung mit Goldchlorid unterworfen. Dabei wurden 5 Fraktionen erhalten, welche nach dem Umkrystallisieren, außer der ersten Fraktion, bei 250—252° schmolzen; die aus den Mutterlauge erhaltenen Krystalle zeigten den Schmelzpunkt 251° resp. 242°. Die krystallographische von Herrn Prof. Dr. Wl. Gulewitsch ausgeführte Untersuchung zeigte, daß alle diese Fraktionen, außer der ersten, welche von den amorphen Beimischungen gebildet wurde, aus ganz identischen Krystallen bestanden, welche ihrem Schmelzpunkt nach dem Cholingoldchlorid $C_5H_{14}NOCl + AuCl_3$) entsprechen.

Somit zeigte die fraktionierte Fällung mit Goldchlorid, daß auch in der Mutterlauge der Sublimatverbindung, wo man eher das Vorhandensein anderer Basen erwarten könnte, nur Cholin enthalten war. Aus der zweiten Leberportion wurden im ganzen 26 g Sublimatverbindung erhalten, was einem Cholingehalt von 0,016% entspricht, während in der ersten Portion ein Cholingehalt von 0,072% gefunden wurde. Ein so großer Unterschied in dem Cholingehalt kann von einer verschieden starken Zersetzung des Lecithins bei der ungleichartigen Behandlung der ersten und der zweiten Leberportion abhängen.

Dritte Untersuchung.

Bei der Anwendung des gewöhnlichen Verfahrens gaben somit die Versuche, das Carnosin aus dem Leberextrakt zu

1) Wl. Gulewitsch, Diese Zeitschrift, Bd. 24, S. 532 (1898).

isolieren, negative Resultate. Einer noch nicht veröffentlichten Beobachtung Prof. Dr. Wl. Gulewitschs nach werden Lösungen reinen Carnosins bei Gegenwart von einer größeren Menge der essigsäuren Salze von Phosphorwolframsäure nicht vollständig gefällt. Ein anderes sehr empfindliches Fällungsmittel des Carnosins hat Prof. Dr. Wl. Gulewitsch in Quecksilberoxydsulfat gefunden, während von neutralem und basischem Bleiacetat Lösungen reinen Carnosins gar nicht gefällt werden. Dementsprechend wurde das Verfahren zur Isolierung des Carnosins aus der Leber auf die folgende Weise abgeändert. Ein Extrakt aus 21,5 kg Leber wurde auf die übliche Art bereitet, ohne Essigsäurezusatz eingedampft, zuerst mit neutralem, dann mit basischem Bleiacetat unter Zusatz von Barythydrat behufs Entfernung des größten Teils der Kohlenhydrate gefällt. Das erhaltene Filtrat wurde vom Baryum und Blei mit Schwefelsäure und Schwefelwasserstoff befreit. Nachdem die Flüssigkeit zum dünnen Syrup eingedampft wurde, versetzte ich $\frac{3}{4}$ derselben mit Schwefelsäure bis zur Reaktion auf Kongo, addierte das übrig gebliebene Viertel hinzu und dampfte die frei gewordene Essigsäure im Vakuum möglichst vollständig ab. Danach wurde das Extrakt mit einer wässrigen Quecksilberoxydsulfatlösung gefällt, der Niederschlag mit Schwefelwasserstoff zersetzt, mit Baryt und Kohlensäure behandelt und im weiteren auf dieselbe Weise wie die in den ersten zwei Portionen erhaltenen Phosphorwolframsäureniederschläge untersucht.

In dem Silberniederschlag wurde das Vorhandensein von Purinkörpern bewiesen.

In dem I. Silberbarytniederschlag erwies sich kein Carnosin; es gelang nur, die Gegenwart von Kreatinin darzutun.

Aus dem II. Silberbarytniederschlag wurden 0,03 g Methylguanidinpicrat mit dem Schmelzpunkt ca. 200° ausgeschieden.

Das bei der Behandlung des Wismutjodidniederschlags erhaltene alkoholische Extrakt trübte sich durch Zusatz von alkoholischer Sublimatlösung nicht, es war hier also kein Carnitin und kein Cholin vorhanden.

Der zweite Quecksilberniederschlag. Das Filtrat vom ersten Quecksilberoxydsulfatniederschlag zeigte eine saure Reaktion auf Kongo; der Zusatz von Ätznatron bis zum Verschwinden dieser Reaktion bedingte das Erscheinen eines zweiten Quecksilberniederschlags, welcher derselben Behandlung wie der erste unterworfen wurde. In diesem Niederschlag gelang es nur, die Gegenwart von Purinbasen und Kreatinin zu konstatieren.

Zusammenfassung.

1. Carnosin und Carnitin, diese charakteristischen Bestandteile des Muskelgewebes, gelang es nicht in dem Leberextrakt zu finden.
 2. Ebenso resultatlos blieb das Forschen nach methylierten Purinen.
 3. Die am Anfang dieser Schrift gegebene Liste der stickstoffhaltigen Bestandteile des Leberextrakts muß durch vier Verbindungen: Adenin, Guanin, Methylguanidin und Cholin vervollständigt werden.
-