

Beiträge zur Muskelchemie.

V. Mitteilung.

Über die Purinbasen der glatten Muskeln der höheren Tiere.

Von

G. Buglia und A. Costantino.

(Aus der chemisch-physiologischen Abteilung der zoologischen Station zu Neapel.)
(Der Redaktion zugegangen am 2. Dezember 1912.)

I.

In einer früheren Arbeit¹⁾ erwähnten wir, daß wir die in den glatten Muskeln der höheren Tiere enthaltenen Purinbasen untersuchen würden. Wir geben im folgenden die Resultate wieder, welche wir am retractor penis des Ochsen erhalten haben.

Die Daten, welche in bezug auf die Purinkörper der glatten Muskulatur höherer Tiere bekannt sind, sind sehr gering; nur in einer Arbeit von Saiki²⁾ findet sich eine Angabe. Genannter Autor, der die anorganischen und organischen Substanzen der glatten Muskeln (Blase und Magen) des Schweins untersuchte, machte auch qualitative Bestimmungen der Purinbasen des wässerigen Auszugs (freie Purinbasen). Er fand von den Oxypurinen nur Hypoxanthin.

Die Gegenwart des Hypoxanthins wurde auch in dem wässerigen Auszug der glatten Muskeln niederer Tiere, wie z. B. des Octopus, bewiesen.³⁾

Unsere vorliegenden Versuche wurden jedoch nicht mit dem wässerigen Muskelextrakt, sondern mit der hydrolytischen Muskelsubstanz gemacht; sie betreffen somit sowohl die freien Purinbasen als auch diejenigen der Muskelproteine.

Wir haben uns bei unseren Versuchen genau an die Vorschriften von Burian und Hall¹⁾ gehalten, welche in qualitativer

¹⁾ G. Buglia und A. Costantino, Beiträge zur Muskelchemie. III. Mitteilung. Diese Zeitschrift, Bd. 81, S. 120, 1912.

²⁾ T. Saiki, Journ. of Biolog. Chem., Bd. 4, S. 483, 1908.

³⁾ M. Henze, Beiträge zur Muskelchemie des Octopoden. Diese Zeitschrift, Bd. 43, S. 477, 1905.

¹⁾ R. Burian und O. Walker Hall, Die Bestimmung des Purinstoffes in tierischen Organen usw. Diese Zeitschr., Bd. 38, S. 336, 1903.

Hinsicht den Purinbasengehalt der quergestreiften Muskulatur des Ochsen und vieler anderer tierischer Gewebe bestimmten.

II.

Wir sammelten eine beträchtliche Quantität der Muskeln des «retractor penis» des Ochsen im Schlachthause und zwar von soeben getöteten Tieren. Die Muskeln werden von dem Bindegewebe befreit, bei 80—90° getrocknet und pulverisiert.

150 g des Muskelpulvers werden analysiert. Man hydrolysiert 12 Stunden lang in einem emaillierten Topf mit 7 l 1%iger Salzsäure. Um eine Konzentration der kochenden Flüssigkeit zu vermeiden, fügt man ab und zu kleine Mengen Wasser zu, so daß das Niveau im Topf konstant bleibt. Der bei der ersten Fällung erhaltene Silberpurinbasen-Niederschlag wird gereinigt, indem man ihn in der Hitze bei Gegenwart von Salzsäure mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Nach Entfernung des Silbersulfids wird das Filtrat mit ammoniakalischer Silberchloridlösung behandelt. Der neue Niederschlag wird des öfteren mit verdünntem Ammoniak und dann mit heißem Wasser unter Zentrifugieren gewaschen; zuletzt wird derselbe gesammelt und im Vakuum über Schwefelsäure bis zum konstanten Gewicht getrocknet.

a) Bestimmungen des Silbergehalts.

I. 0,1585 g des Gesamtpurinbasen-Ag-Niederschlags (AgCl-haltig), im Vakuum getrocknet, wurden mit kleiner Flamme im Porzellantiegel verascht. Rückstand (Ag + AgCl) = 0,0837 g.

Das Silber dieses Rückstandes wird durch Behandlung mit Königswasser in Chlorsilber übergeführt (Gewichtszunahme = 0,0254 g).

Vom erhaltenen Resultat subtrahiert man die Menge Silber, welche den Gesamtpurinbasen entspricht = 0,0773 g, und die Quantität verunreinigendes Chlorsilber = 0,0064 g.

Ag des Gesamtpurinbasen-Ag-Niederschlags (frei von AgCl) = 50,82%.

II. 0,5745 g des Gesamtpurinbasen-Ag-Niederschlags (AgCl-haltig) im Vakuum getrocknet, entsprechen 0,5513 g AgCl-freier Substanz. Im vorliegenden Fall wurde das Silber volumetrisch nach Volhard bestimmt.

Ag des Gesamtpurinbasen-Ag-Niederschlags (frei von AgCl) = 50,17%. Mittel aus beiden Bestimmungen = 50,49%.

b) Bestimmungen des N. (Kjeldahl.)

Gesamt-N des Gesamtpurinbasen-Ag-Niederschlags (frei von AgCl) = 16,47%.

c) Elementaranalyse:

0,2069 g Gesamtpurinbasen-Ag-Niederschlag (= 0,1986 g frei von AgCl) gaben:

$\text{CO}_2 = 0,1350 \text{ g}$ $\text{H}_2\text{O} = 0,0381 \text{ g}$.

Gefunden für AgCl-freie Substanz in Prozenten:

C = 18,53 H = 2,12 N = 16,47 Ag = 50,49 O = 12,39.

Hieraus ergibt sich die Beziehung

C : N = 15,75 : 14.

Nach Burian und Hall berechnet sich für die Oxypurine:

C : N = 15 : 14.

Für die Aminopurine:

C : N = 12 : 14.

Das aus unseren Werten sich ergebende Verhältnis von Kohlenstoff und Stickstoff schließt die Gegenwart von Aminopurinen aus, dagegen stimmt es hinreichender überein mit dem für Oxypurine berechneten Quotienten. Betrachtet man hingegen die absoluten Werte der in dem Gesamtpurin-Ag-Niederschlag bestimmten Elemente, so sieht man, daß die Werte für C, N und H höher sind, als sie den entsprechenden Silberderivaten der beiden Oxypurine (Xanthin und Hypoxanthin) zukommen, während umgekehrt für Ag ein niedrigerer Wert gefunden wurde. Da wir hieraus auf die Gegenwart von Verunreinigungen schlossen, haben wir den Silberniederschlag (0,9199 g) abermals mit Schwefelwasserstoff in Gegenwart von Schwefelsäure in der Hitze zerlegt. Das auf 180 ccm gebrachte Filtrat wurde mit 60 ccm Phosphorwolframsäure (10%) gefällt. Der Niederschlag wurde mit 300 ccm 5% iger Phosphorwolframsäure gewaschen und dann mit Baryt zersetzt, um Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure zu entfernen. Der überschüssige Baryt wurde mit Kohlensäure entfernt. Das Filtrat dieser letzten Fällung ist gelb gefärbt.

Wir machten damit die folgenden qualitativen Reaktionen:

Biuretreaktion negativ.

Xanthinreaktion positiv.

Weidelsche Reaktion positiv.

Auf Grund dieser Resultate haben wir die Trennung der beiden Oxyपुरine vorgenommen.

Die obengenannte mit Salzsäure angesäuerte Flüssigkeit wird mit ammoniakalischer Chlorsilberlösung gefällt. Die Fällung wird in oben angegebener Weise gewaschen (Ammoniak und heißes Wasser) und mit Salzsäure auf dem Wasserbad behandelt, um das Silber zu entfernen. Das Filtrat wird auf dem Wasserbad konzentriert bis zur Sirupkonsistenz. Die noch vorhandene Salzsäure wird mit absolutem Alkohol entfernt, der auch die gelbe, färbende Substanz aufnimmt. Der Rückstand der Purinbasen und ihrer Chlorhydrate wird in Gegenwart von Wasser bei einer Temperatur von ca. 40° 24 Stunden stehen gelassen.

Xanthinfraktion. Der nach Abtrennung der wässrigen Flüssigkeit verbleibende Rückstand wird mit kochendem und leicht mit Salzsäure angesäuertem Wasser aufgenommen. Bei der Filtration hinterbleibt eine braune Substanz. Mit einem Teil des Filtrats werden die früheren Reaktionen wiederholt:

Xanthinreaktion sehr ausgesprochen.

Weidelsche Reaktion desgleichen.

Die Gegenwart des Xanthins in der von uns untersuchten Muskelsubstanz ist demnach nicht in Zweifel zu ziehen. Um uns jedoch von der ausschließlichen Gegenwart des Xanthins zu vergewissern, haben wir obengenannte Flüssigkeit wieder mit ammoniakalischer Chlorsilberlösung behandelt. Den erhaltenen Silberniederschlag wäscht man des öfteren mit Ammoniak und heißem Wasser und trocknet ihn im Vakuum bis zu konstantem Gewicht. Man bestimmt den Silbergehalt, indem man 0,1336 g im Porzellantiegel mit kleiner Flamme verascht. Man erhält 0,0756 g Ag. Die Verunreinigung durch Chlorsilber war zu gering, um sie zu bestimmen.

Gefunden Ag = 56,60%.

Berechnet Ag = 56,24%.

Der gefundene Wert stimmt annähernd auf Xanthinsilberoxyd.

Hypoxanthinfraktion: Die wässrige Lösung des Rückstands der Purinbasen und ihrer Chlorhydrate, welcher 24 Stunden bei 40° stehen gelassen worden war, wurde mit einer Pikrinsäurelösung versetzt. Man erhält einen Niederschlag, der, in heißem Wasser gelöst, mit neutraler Silbernitratlösung eine Fällung gibt. Dieselbe ist von orangegelber Farbe und äußerst schwer löslich in kaltem Wasser. Entgegen unseren Absichten konnten wir diese Verbindung nicht weiter analysieren. Seinem Ansehen nach, sowie seiner geringen Löslichkeit in Wasser nach zu urteilen, dürfte es sich jedoch um Silberpikrathypoxanthin handeln, was von der Tatsache unterstützt wird, daß sich gewöhnlich Xanthin und Hypoxanthin in den tierischen Geweben zusammen finden.

Schlußfolgerungen:

Die Purinbasen der glatten Muskeln der höheren Tiere (rectrator penis des Ochsen) bestehen aus Oxypurinen.

Das Xanthin findet sich in einer Menge, die sich auch in einer verhältnismäßig kleinen Quantität des Muskels (300 g frischer Muskel) bestimmen läßt.¹⁾

Es besteht demnach ein qualitativer Unterschied zwischen den Purinbasen der glatten Muskulatur und denen der quergestreiften der höheren Tiere, denn gemäß der oben erwähnten Untersuchung von Burian und Hall über die quergestreifte Muskulatur des Rinds stimmen die analytischen Werte einer etwa gleich großen Menge des Purinsilberniederschlags (nach Reinigung mittels Phosphorwolframsäure) dieser Autoren ausschließlich auf das Silberderivat des Hypoxanthins.

¹⁾ Wir sind nicht absolut sicher, daß das Xanthin vorgebildet ist im glatten Muskel; jedenfalls ist es durchaus unwahrscheinlich, daß dasselbe aus Guanin durch die erwähnten Manipulationen hervorgegangen wäre, da wir in Gegenwart von Toluol und äußerst schnell gearbeitet haben.