XXVI.

Arbeiten aus dem Laboratorium für experimentelle Pharmakologie
zu Strassburg.

144. Untersuchungen zur Physiologie und Pathologie der Harnsäure bei Säugethieren.!

Von

Prof. Dr. O. Minkowski.
(Mit Tafel I. II.)

Die moderne Lehre von der Entstehung der Harnsäure im Organismus des Menschen und der Säugethiere, wie sie aus den zahlreichen Untersuchungen der letzten Jahre hervorgegangen ist, erfreut sich zur Zeit bereits einer allgemeinen Anerkennung und hat die alten Anschauungen fast vollständig verdrängt. Man betrachtet jetzt die Harnsäure nicht mehr, wie früher, als eine Zwischenstufe bei der Umwandlung der verschiedenen Eiweisskörper in Harnstoff, sondern als ein specifisches Endproduct der in den Zellkernen enthaltenen besonderen Eiweissverbindungen, der Nucleïne. Man nimmt an, dass sie durch eine directe Oxydation aus jener bereits präformirten Atomgruppe hervorgeht, die bei der Spaltung der Miescher'schen „Nucleinsäure“ in Form der sogenannten „Nucleïnbasen“, „Alloxur-basen“ (Kossel) oder „Purinbasen“ (Emil Fischer)¹⁾ — Hypoxanthin, Xanthin, Adenin und Guanin — gewonnen werden kann.

Die Beobachtungen, auf welche sich diese Ansicht stützt, sind in den letzten Jahren so häufig erörtert worden, dass es überflüssig wäre, sie hier noch einmal zu wiederholen. Man hat dieselben bereits in ausgedehntestem Maasse nicht nur für die Physiologie, sondern

1) Emil Fischer leitet diese Körper von einem in Form eines Doppelringes verketteten Complexe von 5 Kohlenstoff- und 4 Stickstoffatomen:

ab, den er als Purinkern bezeichnet. Demnach kommt den erwähnten Basen und der Harnsäure folgende Constitution zu:

auch für die Pathologie der Harnsäure verwerthet und auch schon zur Grundlage einiger weiterer Hypothesen auf dem ohnehin schon hypothesenreichen Gebiete der sog. „harnsauren Diathese“ gemacht.

Bei aller Anerkennung des Fortschrittes, welcher in der Lehre von der Harnsäurebildung durch diese Beobachtungen erzielt wurde, muss indessen zugegeben werden, dass die genaueren Vorgänge bei der Entstehung der Harnsäure aus den Nucleinen noch vieles Räthselhafte bieten.

Allerdings scheint es sicher zu sein, dass man beim Menschen und bei Säugethieren durch Verabfolgung einer nucleinreichen Nahrung, wie sie z. B. im Kalbsthymus gegeben ist, die Menge der im Harn ausgeschiedenen Harnsäure beträchtlich steigern kann (Weintraud¹⁾ u. a.), und dass eine gleiche Steigerung der Harnsäureausfuhr durch Verfütterung von nucleinfreiem Eiweiss nicht erzielt werden kann (Hess und Schmoll²⁾). Aber neben dem Nuclein-

Vergl. E. Fischer, Ueber die Constitution des Coffeins, Xanthins, Hypoxanthins und verwandter Basen. Ber. d. deutsch. chem. Gesellschaft Bd. XXX, S. 549, 1897. — Synthese des Hypoxanthins, Xanthins, Adenins und Guanins, Ibid. S. 2226.

1) Weintraud, Ueber den Einfluss des Nucleins der Nahrung auf die Harnsäurebildung. Berliner klin. Wochenschr, Nr. 19. 1895.

2) Hess und Schmoll, Ueber die Beziehungen der Eiweiss- und Paranucleinsubstanzen der Nahrung zur Alloxurkörperausscheidung im Harn. Archiv f. experiment. Pathol. u. Pharmacol. Bd. XXXVII, S. 243, 1896.

gehalt der Nahrung kommen unzweifelhaft auch die in den kernhaltigen Elementen des Körpers enthaltenen Nucleinsubstanzen als Quelle für die Harnsäurebildung in Betracht, und es ist sicher, dass der Organismus bei dem Aufbau seiner Zellkerne nicht auf die in der Nahrung präformirten Atomcomplexe angewiesen ist, sondern auch aus anderem stickstoffhaltigen Material Nucleinbasen zu bilden vermag.¹⁾

Andererseits unterliegt es keinem Zweifel, dass die Harnsäure im Organismus der Säugethiere noch weiter zersetzt werden kann. Wenigstens ist es sicher, dass beim Menschen und bei Hunden nach Verfütterung von Harnsäure nur ein geringer Bruchtheil derselben im Harne unverändert wieder erscheint.

Dazu kommt noch, dass ausser der Harnsäure noch andere, zum Theil bekannte, zum Theil noch unbekannte oder nicht genügend beachtete Harnbestandtheile als Endproducte des Nucleinumsatzes auftreten können, deren Beziehungen zur Harnsäureausscheidung einstweilen noch durchaus nicht aufgeklärt sind.

So bietet denn die Menge der im Harne ausgeschiedenen Harnsäure noch keineswegs einen brauchbaren Maassstab für die Beurtheilung des Nucleinumsatzes im Organismus, und wir sind noch weit entfernt davon, sämtliche Bedingungen, die für das Verhalten der Harnsäureausscheidung bestimmend sind, zu überblicken. Der Nucleingehalt der Nahrung ist vielleicht nicht einmal das wichtigste Moment, welches hierbei in Betracht kommt. Wenigstens ist es bekannt, dass bei gleicher Ernährung nicht nur verschiedene Thierarten, sondern auch verschiedene Individuen einer und derselben Art die grössten Differenzen in der Grösse der Harnsäureausscheidung zeigen können. Und so wäre es denn von vornherein nicht einmal ausgeschlossen, dass der gesteigerte Harnsäuregehalt des Harnes, wie er nach Zufuhr einer nucleinreichen Nahrung beobachtet wird, nicht als der directe Ausdruck einer gesteigerten Verarbeitung von Harnsäurevorstufen angesehen werden darf, sondern nur auf die Aenderung jener anderen Bedingungen zurückgeführt werden muss, die für die Grösse der Harnsäureausscheidung maassgebend sind.

Auffallend muss es jedenfalls erscheinen, dass nach den bis jetzt vorliegenden Beobachtungen ein directer Uebergang der Purinbasen in Harnsäure im Organismus der Säugethiere nicht nachgewiesen

1) s. Kossel, Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. X, S. 248, 1886. — Tichomiroff, Ibid. Bd. IX, S. 518, 1885. — Burian und Schur, Ueber Nucleinbildung im Säugethierorganismus. Zeitschrift f. physiolog. Chemie Bd. XXIII, S. 55, 1897.

werden konnte. Wenn wir von den an Vögeln angestellten Versuchen von v. Mach¹⁾ absehen, auf welche wir später noch zurückkommen, haben sämtliche an Säugethieren angestellten Fütterungsversuche mit Hypoxanthin, Xanthin oder Guanin (Kerner²⁾, Nencki und Sieber³⁾, Baginsky⁴⁾, Jaffe⁵⁾, Stadthagen⁶⁾, Krüger und Salomon⁷⁾) bis jetzt zu negativen Resultaten geführt. Auch nach der Verfütterung von Adenin in den Versuchen von Kossel⁸⁾ dürfte eine erhebliche Harnsäuremenge im Harn nicht aufgetreten sein, da eine solche bei der Wiedergewinnung des Adenins aus dem Harn diesem Beobachter nicht entgangen wäre.

Eine Erklärung für diese auffallende Erscheinung hat man vielfach in einer Annahme gesucht, die Horbaczewski⁹⁾ bei Gelegenheit seiner Versuche über die Bildung der Harnsäure aus Milzpulpa gemacht hat. Darnach sollte in den Nucleinen eine Atomgruppe enthalten sein, die unter geeigneten Bedingungen entweder Harnsäure oder Xanthinbasen liefern kann, je nachdem sie vor der Spaltung oxydirt wird oder nicht. Die einmal abgespaltenen Xanthinbasen sollten durch Oxydation nicht mehr in Harnsäure übergeführt werden können. Diese Annahme — welche auch Weintraud¹⁰⁾ zur Erklärung seiner Beobachtungen über das Vorkommen von Harnsäure, bezw. Xanthinbasen im Darminhalt verwerthet hat —, muss aber als nicht genügend begründet bezeichnet werden, solange es nicht gelungen ist, die hypothetische Vorstufe der Harnsäure und Xanthinbasen direct nachzuweisen und zu isoliren.

Eine andere hier in Betracht kommende und in ihren Hauptzügen

1) v. Mach, Ueber die Bildung der Harnsäure aus dem Hypoxanthin. Archiv f. experiment. Pathol. u. Pharmacol. Bd. XXIV, S. 389. Inaug.-Dissert. Königsberg 1888.

2) Kerner, Annalen der Chem. und Pharm. Bd. CIII, S. 249, 1857.

3) Nencki und Sieber, Pflüger's Archiv Bd. XXXI, S. 319.

4) Baginsky, Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. VIII, S. 397, 1883/84.

5) s. Ebstein, Natur und Behandlung der Gicht. S. 98. Wiesbaden 1882.

6) Stadthagen, Ueber das Vorkommen der Harnsäure in verschiedenen thierischen Organen, ihr Verhalten bei der Leukämie und die Frage ihrer Entstehung aus den Stickstoffbasen. Virchow's Archiv Bd. CIX, S. 416, 1887.

7) Krüger und Salomon, Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. XXI, S. 184, Ann. 1896.

8) Kossel, Ueber das Adenin. Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. XIII, S. 241.

9) Horbaczewski, Beiträge zur Kenntniss der Bildung der Harnsäure und Xanthinbasen. Sitzungsber. d. k. k. Akademie der Wissensch. zu Wien. Math.-naturw. Klasse, Abth. III, 1891.

10) Weintraud, Zur Entstehung der Harnsäure im Säugethierorganismus. XIV. Congress für innere Medicin, Wiesbaden 1896.

ebenfalls auf Horbaczewski zurückzuführende Annahme kann auch nur als noch unbewiesene Hypothese angesehen werden: darnach sollte die Entstehung der Harnsäure ausschliesslich auf den Zerfall der in den Zellkernen organisirten Nucleine zu beziehen sein. Horbaczewski richtete dabei sein Augenmerk nur auf die Kerne der Leukocyten, neuere Autoren (Kühnau¹⁾ u. a.) schrieben auch den kernhaltigen Elementen der Gewebe eine gewisse Rolle zu. Der Einfluss des Nucleingehaltes in der Nahrung sollte dabei jedenfalls nur ein indirecter sein: die nucleinreiche Nahrung sollte nur in stärkerem Maasse auf die Zellbildung und den Zellenzerfall im Organismus einwirken und speciell auch eine stärkere „Verdauungsleukocytose“ hervorrufen. Von diesen Bestrebungen sagte schon Weintraud mit Recht: „Solange wir zur Beurtheilung der beiden maassgebenden Factoren, der Harnsäurebildung einerseits und des Leukocytenfalles andererseits, keine zuverlässigeren Anhaltspunkte in der Hand haben als jetzt, und die Harnsäurebildung nach der Harnsäureausscheidung, den Leukocytenzerfall aber nach der Leukocytenzahl in dem Blut eines peripheren Gefässbezirkes abschätzen müssen, solange wird man vielleicht ohne viel Glück nach Beweisen für die Horbaczewski'sche Hypothese suchen.“ Nur dadurch, dass einzelne Autoren die unbewiesenen Vermuthungen anderer als Basis für ihre weiteren Schlussfolgerungen angenommen haben, konnten sie zu anscheinend klaren Vorstellungen gelangen, von denen man günstigenfalls nur sagen kann, dass sie ebensogut zutreffend sein mögen, wie auch nicht.

Ehe man daran gehen darf, sich klarere Vorstellungen über die Vorgänge bei der normalen Bildung und Ausscheidung der Harnsäure oder gar über ihr Verhalten bei den pathologischen Ablagerungen im Organismus zu bilden, wird jedenfalls die Summe der ermittelten Thatsachen noch wesentlich gesteigert werden müssen. Und so ergab sich auch für mich, als ich mich vor die Aufgabe gestellt sah, die in der Litteratur vorliegenden Beobachtungen kritisch zu sichten, sehr bald die Nothwendigkeit, einzelne Fragen einer experimentellen Prüfung zu unterziehen. Die Untersuchungen, welche ich zu diesem Zwecke im hiesigen pharmakologischen Institute vorgenommen habe, sind zwar noch keineswegs abgeschlossen, doch glaube ich, einige Ergebnisse bereits jetzt mittheilen zu dürfen.

1) Kühnau, Experimentelle und klinische Untersuchungen über das Verhältniss der Harnsäureausscheidung zu der Leukocytose. Zeitschrift f. klin. Med. Bd. XXVIII, S. 534, 1895. — Kühnau und Weiss, Zeitschrift f. klin. Med. Bd. XXXII, S. 482, 1897. — Kühnau, Deutsch. Archiv f. klin. Med. Bd. LVIII, S. 339, 1897.

Ich war mir bewusst, dass gerade in Bezug auf die Harnsäure Fragen, welche die menschliche Pathologie interessiren, nicht anders als durch Beobachtungen am Menschen selber endgültig entschieden werden können. Da indessen die Möglichkeit vorlag, dass die beabsichtigten Fütterungsversuche schädliche Wirkungen zur Folge haben könnten — wie das in der That zum Theil der Fall war —, so blieb nichts anderes übrig, als zunächst die Beobachtungen an Thieren anzustellen mit dem Vorbehalte einer eventuellen Nachprüfung einzelner Ergebnisse durch geeignete Untersuchungen am Menschen.

Ich entschloss mich, die Versuche an Hunden auszuführen, obgleich ja bei diesen die Harnsäureausscheidung im Harne eine verhältnissmässig geringere Rolle zu spielen scheint, als bei anderen Thieren. Aber einmal eignen sich Hunde sehr viel besser für Fütterung, Beobachtung, Aufsammeln des Harnes u. s. w., und zweitens liegt über das Verhalten der Harnsäureausscheidung bei diesen Thieren auch bereits eine Anzahl von Untersuchungen in der Litteratur vor, die ergeben haben, dass in vieler Beziehung die Verhältnisse sich bei ihnen ähnlich gestalten, wie beim Menschen. Insbesondere hat man auch bei Hunden nach Fütterung mit Nucleinen beträchtliche Steigerungen der Harnsäureausscheidung beobachtet.

I. Giebt es eine synthetische Harnsäurebildung bei Säugethieren?

Eine Frage, die zunächst einer Prüfung werth schien, war die: Ist die oxydative Abspaltung präformirter Atomcomplexe der einzige Weg, auf welchem die Harnsäure beim Säugethier gebildet wird, oder findet hier, wie im Organismus der Vögel, auch ein synthetischer Aufbau von Harnsäure aus einfacheren Stickstoffverbindungen statt?

Im Organismus der Vögel, in welchem die Harnsäure die Hauptmasse des im Harne ausgeschiedenen Stickstoffes repräsentirt, wird bekanntlich der überwiegend grösste Theil derselben synthetisch gebildet. Eingeführte Ammoniaksalze, sofern sie nicht an anorganische Säuren gebunden sind (v. Schröder¹), sowie Harnstoff (Jaffe und H. Meyer²) werden in Harnsäure umgewandelt. Diese synthetische Harnsäurebildung ist an das Erhaltensein der Leberfunktion gebunden (Minkowski³). Nach vollständiger⁴ Ausschaltung der Leber bleibt die Synthese aus: der grösste Theil des Stick-

1) v. Schröder, Ueber die Verwandlung des Ammoniaks in Harnsäure im Organismus des Huhnes. Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. II, S. 228, 1878.

2) Jaffe u. H. Meyer, Beiträge zur Kenntniss des Stoffwechsels im Organismus der Hühner. Inaug.-Dissert. Königsberg 1877.

3) Minkowski, Ueber den Einfluss der Leberexstirpation auf den Stoffwechsel. Archiv f. experiment. Pathol. u. Pharmakol. Bd. XXI, 1886.

4) Minkowski, Ueber die Ursachen der Milchsäureausscheidung nach der Leberexstirpation. Ibid. Bd. XXXI, 1893.

stoffes im Harne erscheint in Form von milchsaurem Ammon, eingeführter Harnstoff wird unverändert ausgeschieden, während verfütterte Amidosäuren zu einer Steigerung der Ammoniakausfuhr im Harne Veranlassung geben. Eine geringe Menge von Harnsäure wird indessen auch nach vollständiger Leberexstirpation noch weiter ausgeschieden, ungefähr so viel, wie es dem Harnsäuregehalt des Säugethierharnes entspricht. Für diese ohne Mitwirkung der Leber gebildete Harnsäure erklärte ich bereits im Jahre 1885 eine Entstehung durch Oxydation der Xanthinkörper für wahrscheinlich, so dass „für die Harnsäure des Vogelharnes eine zwiefache Entstehungsweise in Betracht käme: für die Hauptmenge die Synthese aus Ammoniak, daneben eine Oxydation der Xanthinkörper. Dem ersteren Modus würde bei den Säugethieren die Entstehung des Harnstoffes entsprechen, der zweite führt auch bei diesen zur Bildung von Harnsäure.“ Ich bemerkte ferner, dass „Versuche mit Einführung von Xanthin in den Organismus entleberter Gänse vielleicht geeignet sein könnten, diese Frage zu entscheiden“.

Diese letzteren Versuche wurden später von v. Mach (l. c.) ausgeführt und ergaben in der That, dass auch nach Ausschaltung der Leber und dem Aufhören der synthetischen Harnsäurebildung die oxydative Umwandlung des Hypoxanthins in Harnsäure bei den Vögeln ungestört von statten geht.

Es war nun von vornherein nicht undenkbar, dass der Unterschied in dem Verhalten der Endproducte des Stickstoffumsatzes bei den Vögeln und Säugethieren kein principieller, sondern nur ein gradueller ist, dass also auch bei den Säugethieren ein zwiefacher Modus der Harnsäurebildung anzunehmen wäre, und dass bei diesen, umgekehrt wie bei den Vögeln, die synthetische Entstehung an Bedeutung hinter der oxydativen zurückstände.

Um diese Möglichkeit zu prüfen, ging ich von folgender Erwägung aus: Bei der Leichtigkeit, mit der bei den Säugethieren die weitere Zersetzung der Harnsäure im Organismus zustandekommt, reicht vielleicht der allmähliche Abbau complicirterer Stickstoffverbindungen nicht aus, um die auf synthetischem Wege stattfindende Harnsäurebildung in die Erscheinung treten zu lassen. Vielleicht aber wäre es möglich, eine solche nachzuweisen, wenn es gelänge, den Organismus eines Säugethieres mit den unmittelbaren Vorstufen der Harnsäuresynthese zu überschwemmen und so eine erhebliche Beschleunigung dieser Synthese zu bewirken. Dann könnte vielleicht wenigstens ein Bruchtheil der so gebildeten Harnsäure der weiteren Zersetzung entgehen und im Harne erscheinen.

Die Versuche, welche ich in dieser Absicht an Hunden ausgeführt habe, reichen vielleicht nicht aus, um die hier aufgeworfene Frage endgültig zu entscheiden. Immerhin sprechen sie wohl gegen die Wahrscheinlichkeit einer synthetischen Harnsäurebildung bei diesen Thieren.

Bei dem ersten dieser Versuche handelte es sich um eine Fütterung mit sehr grossen Mengen von Harnstoff.

Versuch I. Einem Hunde von 8,7 kg Körpergewicht, der bei einer längere Zeit fortgesetzten Fütterung mit je 200 g Fleisch, 150 g Brot, 200 ccm Milch und 100 ccm Wasser in 24 Stunden 250—300 ccm Harn mit 0,015—0,024 Harnsäure¹⁾ ausgeschieden hatte, wurden 80 g Harnstoff in 500 ccm Wasser gelöst in 2 Portionen mittels Schlundsonde eingegeben. In den nächsten 24 Stunden entleerte der Hund fast 1 Liter Harn, in welchem nach der Ausfällung der Phosphate durch die Magnesiamischung mittels ammoniakalischer Silberlösung überhaupt kein Niederschlag erhalten werden konnte.

Das vollständige Fehlen der Harnsäure im Harne mochte in diesem Versuche auf das Versagen der Silberfällung in dem stark verdünnten und harnstoffreichen Harne zu beziehen sein. Jedenfalls durfte aber angenommen werden, dass die Menge der Harnsäure in dem Harne sehr gering und durch die Harnstofffütterung keineswegs gesteigert war.

In einem 2. Versuche verfütterte ich fleischmilchsaures Ammon, welches ich aus dem Harne entleberter Gänse gewonnen hatte.

Versuch II. 20 g chemisch reines fleischmilchsaures Zink wurde in heissem Wasser gelöst und mit kohlensaurem Ammon sorgfältig aus-

1) Die Bestimmung der Harnsäure wurde im wesentlichen nach Ludwig-Salkowski durch Ausfällung mit Magnesiamischung und ammoniakalischer Silberlösung ausgeführt, doch mit der Modification, dass der Silberniederschlag in 300—400 ccm mit Essigsäure versetztem, heissem Wasser suspendirt, dann mit Schwefelwasserstoff zerlegt, heiss filtrirt und nachgewaschen und das Filtrat zur Trockene eingedampft wurde. Der Rückstand wurde dann in wenigen Cubikcentimetern verdünnter Kalilauge gelöst, durch ein möglichst kleines Filter in ein gewogenes, halbkugelförmiges Glasschälchen hineinfiltrirt, sorgfältig nachgewaschen, mit HCl übersäuert, auf dem Wasserbade erhitzt, eventuell noch etwas eingengt und zur Krystallisation stehen gelassen. Von den ausgeschiedenen Harnsäurekrystallen wurde die Mutterlauge durch eine capillare Glaspipette vorsichtig abgesogen, die Krystalle wiederholt mit einigen Tropfen Wasser, dann mit Alkohol gewaschen, getrocknet und im Schälchen gewogen. Auf diese Weise wurde das Sammeln der Harnsäure auf dem Filter und das wiederholte Wägen der Filter vermieden und, wie Controlversuche ergaben, ausserordentlich genaue Resultate erzielt. Die abgesogene Mutterlauge wurde zur Controle noch weiter eingedampft und auf ihren Harnsäuregehalt geprüft, der stets minimal war.

gefällt, von dem ausgeschiedenen kohlensauren Zink abfiltrirt und das Filtrat auf ein Volumen von 200 cem gebracht. Der zu dem vorigen Versuche benutzte Hund säuft die mit Milch gemischte Lösung freiwillig. In den nächsten 24 Stunden entleert er 480 cem Harn, in welchem nur 0,009 Harnsäure nachgewiesen werden können.

Also auch in diesem Falle wurde eine Steigerung der Harnsäureausscheidung nicht beobachtet ¹⁾.

Nach den Ergebnissen der späteren Untersuchungen hätte in diesen beiden Versuchen noch auf das Verhalten der Allantoinausscheidung geachtet werden müssen. In dem ersten Versuche wäre allerdings der Nachweis des Allantoins in Anbetracht der grossen Harnstoffmenge kaum möglich gewesen. Den zweiten Versuch konnte ich vorläufig aus Mangel an geeignetem Material nicht wiederholen.

Es mag hier übrigens noch hervorgehoben werden, dass auch nach der Fütterung mit Allantoin (s. Versuch X) eine Zunahme der Harnsäureausscheidung nicht beobachtet wurde.

II. Verhalten der Harnsäureausscheidung nach Fütterung mit Salmonucleinsäure und ihren Spaltungsproducten.

Die nächste Aufgabe, die ich mir gestellt hatte, war: von möglichst reinem Material ausgehend, die verschiedenen Spaltungsproducte der Nucleinsäure nach einander zu verfüttern, um über die Vorstufen der oxydativen Harnsäurebildung nähere Aufklärung zu erhalten.

Zu diesem Zwecke hatte mir Herr Prof. Schmiedeberg ein Material freundlichst zur Verfügung gestellt, welches ganz besonders zur Reindarstellung der Nucleinsäure geeignet war, nämlich grössere Mengen von Lachssperma, die aus dem Miescher'schen Nachlass stammten.

Ein Vorversuch sollte entscheiden, ob die in dem Lachssperma enthaltene Nucleinsäure (Salmonucleinsäure) beim Hunde überhaupt zu einer Vermehrung der Harnsäureausscheidung führt:

Versuch III. Eine grössere Menge von trocken aufbewahrter entfetteter Lachsmilch, die zunächst zur Entziehung des Protamins mit 0,5 procentiger Schwefelsäure behandelt war und an diese keine mit Silber fällbaren Basen abgegeben hatte, wird im Brütofen mit 0,3 procentiger Salzsäure und frischem Magensaft der Verdauung unterworfen. Der unverdaute Rück-

1) In einer soeben erschienenen Publication (Beiträge zur Erforschung der Bedingungen der Harnsäurebildung, Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. XXV, Heft 5 und 6, S. 396, 1898) berichtet J. Weiss über Versuche mit Darreichung von Glycerin und Milchsäure (Gährungsmilchsäure?) an Menschen, die ebenfalls einen Einfluss dieser Substanzen auf die Harnsäureausscheidung nicht erkennen liessen.

stand noch mit 0,5 procentiger Schwefelsäure so lange gewaschen, bis die anfangs sehr zähe Masse eine weiche Beschaffenheit angenommen hat. Dann wird dieselbe in Wasser unter allmählichem Zusatz von Natronlauge gelöst, wobei mit dem tropfenweisen Zusatz der Natronlauge so lange fortgefahren wird, als die zunächst alkalische Reaction immer noch bald wieder schwach sauer oder neutral wird.

Die so gewonnene Lösung giebt mit Salzsäure und Alkohol einen flockigen Niederschlag von Nucleinsäure. Sie enthält noch etwas Protamin (Biuretreaction), aber keine freien Xanthinbasen (nach Zusatz von Essigsäure und Ammoniak mit ammoniakalischer Silberlösung keine Fällung). Nach dem Kochen der Lösung mit Salzsäure erhält man aber einen sehr reichlichen, in Ammoniak unlöslichen Silberniederschlag.

10 ccm dieser Lösung eingedampft und mit Salpeterminschung verascht, ergeben 0,140 P_2O_5 . Daraus berechnet sich unter Zugrundelegung der Miescher-Schmiedeberg'schen¹⁾ Formel für die Salmonucleinsäure $C_{40}H_{54}N_{14}O_{17} \cdot 2P_2O_5$, welche 22,08 Proc. P_2O_5 verlangt, ein Nucleingehalt der Lösung von 6,34 Procent.

Von dieser Lösung werden dem Hunde, der bereits zu den früheren Versuchen gedient hatte, am 24. Februar 500 ccm — entsprechend einem Nucleinsäuregehalt von 31,7 g — in 2 Portionen verabfolgt; am 25. Februar noch 300 ccm, entsprechend 19 g Nucleinsäure. Das Thier säuft die Lösung, die jedesmal mit 100 ccm Milch versetzt wird, freiwillig, erbricht nicht und entleert erst am 25. Februar nachmittags festen normal aussehenden Koth. Der Verlauf der Harnsäure- und Phosphorsäureausscheidung ergibt sich aus folgender Tabelle:

Tabelle I.

Datum	Harnmenge ccm	Harnsäure		Phosphorsäure		Bemerkungen
		in 100 ccm	in 24 Stunden	in 100 ccm	in 24 Stunden	
23. Febr.	730		0,0153		1,24	200 g Fleisch, 150 g Brot
		0,0043		0,340		200 ccm Milch
24. Febr.			0,0153		1,24	do.
25. Febr.	900	0,0105	0,0945	0,486	4,37	do. 31,7 g Nucleinsäure
26. Febr.	600	0,0106	0,0663	0,640	3,84	do. 19,0 g Nucleinsäure

Es war demnach zweifellos nach der Zufuhr der Salmonucleinsäure eine Zunahme des Harnsäuregehaltes im Harn zustande gekommen, die im Vergleich zu der vorausgegangenen Harnsäureausscheidung sogar recht erheblich erscheinen konnte. Doch war die absolute Menge der Harnsäure in Anbetracht der Quantität der eingeführten und, wie aus dem Phosphorsäure-

¹⁾ Miescher, Physiologisch-chemische Untersuchungen über die Lachsmilch. Herausgegeben von Schmiedeberg. Archiv f. experiment. Pathol. u. Pharmakol. Bd. XXXVII. 1896.

gehalt des Harnes ersichtlich war, auch zum grösseren Theile resorbirten Nucleinsäure immer noch sehr gering, so dass jedenfalls nur ein ganz unerheblicher Bruchtheil der aus der Nucleinsäure abspaltbaren Purinbasen in Form von Harnsäure im Harn erschienen sein konnte. Irgend welche nennenswerthe Mengen von Purinbasen konnten im Harn auch nicht aufgetreten sein, da der gesammte bei der Silberfällung aus dem Harn erhaltene Niederschlag nur sehr unbedeutend war. Der bei weitem grösste Theil des in den Nucleinbasen enthaltenen Stickstoffes musste daher in anderer Form im Harn erschienen sein.

Immerhin war die Zunahme der Harnsäureausscheidung in diesem Versuche so deutlich, dass ich hoffen durfte, vielleicht auch bei der Verfütterung der Zersetzungsproducte der Nucleinsäure klare Resultate zu erhalten; um so mehr, als von vornherein die Annahme nahelag, dass, je mehr die eingeführten Spaltungsproducte sich in ihrer Zusammensetzung der Harnsäure näherten, sie um so rascher auch in diese umgewandelt würden und um so eher auch die vermehrte Production in einer gesteigerten Ausscheidung von Harnsäure zum Ausdruck gelangen lassen könnten.)

Ich suchte daher zunächst, die aus der Salmonnucleinsäure abspaltbaren Purinbasen möglichst rein und ohne allzu tiefgreifende Zersetzung des Nucleinsäurerestes, der noch für andere Versuche verwendet werden sollte, zu gewinnen. Zu diesem Zwecke bewährte sich am besten das folgende Verfahren:

275 g von Miescher im Jahre 1874 gewonnenes und entfettetes, dann trocken aufbewahrtes Lachssperma wurde mit Magensaft und 600 ccm 0,25 procentiger Salzsäure 12 Stunden der Verdauung unterworfen; der ungelöste Rückstand abcolirt und noch einmal mit der gleichen Menge Salzsäure und Magensaft über Nacht stehen gelassen. Die Filtrate ergeben mit ammoniakalischer Silberlösung keine nennenswerthe Fällung. Der Rückstand wird sodann mit Wasser, Alkohol und Aether, dann wieder mit Alkohol und mit Wasser gewaschen. Darauf mit 1 Liter 1 procentiger Salzsäure 2 Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen, alsdann filtrirt. Das farblose Filtrat gab jetzt mit ammoniakalischer Silberlösung eine sehr reichliche Fällung. Der ungelöste Rückstand wurde nochmals mit 1 procentiger Salzsäure bei Zimmertemperatur stehen gelassen und die Procedur mehrmals wiederholt, bis fast die ganze Masse in Lösung ging, und der geringe ungelöste Rückstand auch beim Kochen mit stärkerer Salzsäure keine mit Silber fällbaren Basen mehr abspaltete.

Die klaren und farblosen Filtrate wurden nun mit Ammoniak versetzt und mit einer Lösung von Chlorsilber in Ammoniak ausgefällt. Der reichliche Silberniederschlag auf dem Filter gesammelt und sorgfältig ausgewaschen, zur besseren Reinigung noch einmal in Wasser vertheilt, mit Salzsäure zerlegt und abermals mit Ammoniak und Chlorsilber ausgefällt.

Der Niederschlag wieder auf dem Filter gesammelt und gewaschen, dann mit heisser Salzsäure zerlegt. Da Chlorsilber durchs Filter ging, so wurde ein wenig Kupferchlorid hinzugefügt und Schwefelwasserstoff durchgeleitet. Nach dem Verjagen des überschüssigen Schwefelwasserstoffs mittels Durchleiten von Luft heiss filtrirt, der Filtrerrückstand mit heisser Salzsäure noch mehrmals ausgezogen und das nunmehr vollkommen klare Filtrat zur Trockne auf dem Wasserbade eingedampft. Da die Lösung sich beim Eindampfen noch etwas schwärzte, so wurde sie noch einmal mit etwas Kupfer und Schwefelwasserstoff behandelt, wobei schliesslich ein Filtrat erhalten wurde, das auch nach dem Eintrocknen auf dem Wasserbade farblos blieb.

Der anfangs in heissem Wasser leicht lösliche Rückstand gab bei wiederholtem Eindampfen unter Wasserzusatz Salzsäuredämpfe ab, wobei eine in Wasser unlösliche kreibige Masse zurückblieb. Diese wurde abfiltrirt, mit Wasser gewaschen und die Filtrate immer wieder zur Trockne eingedampft, so lange als noch eine Dissociation des Rückstandes wahrnehmbar war. Schliesslich hinterliess die Lösung nach dem Abdampfen nur eine in heissem Wasser leicht lösliche krystallinische Masse, die mit etwas Thierkohle entfärbt und aus heissem Wasser unkrystallisirt, sich in prachtvollen, kaum gefärbten Krystalldrusen ausschied, die aus kurzen, dicken glänzenden Prismen bestanden.

Die concentrirte Lösung dieser Krystalle gab mit Ammoniak einen Niederschlag, der sich in kaltem Wasser schwer, in heissem Wasser leicht löste. Nach dem langsamen Erkalten der heissen Lösung schied sich die freie Base in Form von sphärischen Agregaten aus.

Mit Salpetersäure verdampft, hinterliess die Substanz einen farblosen Rückstand, der auf Zusatz von Kalilauge auch nach dem Eindampfen keine Färbung gab.

Mit Zink und verdünnter Salzsäure auf dem Wasserbade digerirt, färbte sich die Lösung auf Zusatz von Kalilauge nach einiger Zeit deutlich roth¹⁾.

0,1288 der lufttrockenen Substanz verlieren im Vacuum bei 100° über Schwefelsäure nur 0,0016 und neutralisiren bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl 46,8 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure, entsprechend einem Stickstoffgehalt von 51,5 Proc.

0,0943 der lufttrockenen Substanz verlieren im Vacuum über Schwefelsäure bei 100° 0,0009 und verbrauchen 34,2 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure, entsprechend einem Stickstoffgehalt von 51,3 Proc.

0,1926 der im Vacuum über Schwefelsäure bei 100° getrockneten Substanz geben bei der Verbrennung 0,3120 CO₂ und 0,0778 H₂O, entsprechend 44,2 Proc. C und 4,5 Proc. H.

0,2064 der mehrfach umkrystallisirten salzsauren Base ergeben bei der Chlorbestimmung 0,1493 Chlorsilber und 0,0102 metallisches Silber, entsprechend 0,0369 + 0,0033 = 0,0402 Cl, entsprechend einem Chlorgehalt von 19,47 Proc.

Berechnet für C₅N₅H₅:

N	51,8 Proc.
C	44,4 "
H	4,7 "

Gefunden:

51,4 Proc.
44,2 "
4,5 "

1) s. Kossel, Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. XII, S. 241.

Berechnet für $C_5N_5H_5.HCl + \frac{1}{2}H_2O$:	Gefunden:
Cl 19,66	19,5

Demnach handelte es sich zweifellos bei dieser Base um Adenin. —

Die durch Dissociation der salzsauren Lösung erhaltenen, von dem salzsauren Adenin abfiltrirten, in Wasser schwer löslichen Basen wurden nun mit heissem verdünnten Ammoniak extrahirt, wobei ein grosser Theil in Lösung ging. Es hinterblieb eine Substanz, die in heissem Wasser und in Ammoniak so gut wie unlöslich war.

Mit Salpetersäure zur Trockne eingedampft, hinterlässt diese Substanz einen gelben Rückstand, der auf Zusatz von Kalilauge sich intensiver orange-gelb, aber nach dem Erhitzen violettroth und schliesslich blau färbt.

In der 70fachen Menge 10 procentiger kochender Schwefelsäure gelöst, liefert dieselbe beim Erkalten ein schön krystallisirendes Sulfat. Von diesem verlieren 1,4730 g nach längerem Stehen im Exsiccator bei Zimmertemperatur 0,0235, entsprechend 1,7 Proc. H_2O . 0,5348 g der Substanz geben dann nach dem Erhitzen auf 120° noch 0,0382, entsprechend 7,1 Proc. H_2O ab. In Summa 8,8 Proc. Krystallwasser.

0,1040 der krystallwasserfreien Substanz verbrauchen bei der Stickstoffbestimmung 26,0 ccm $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure, entsprechend 35,0 Proc. N.

Schwefelsaures Guanin $(C_5N_5H_5O)_2 H_2SO_4 + 2H_2O$ ¹⁾ verlangt 8,7 Proc. Krystallwasser und 35,0 Proc. N.

Demnach bestand die Substanz aus Guanin. —

Der in Ammoniak gelöste Theil der Basen schien hauptsächlich aus Xanthin und Hypoxanthin zu bestehen. Eine genauere Untersuchung dieser Basen wurde einstweilen nicht vorgenommen.

Im ganzen betrug die Ausbeute ca. 8 g Adenin, ca. 2 g Guanin und ca. 3—4 g der übrigen Basen; doch mögen in den verschiedenen Mutterlaugen noch reichliche Mengen der Purinbasen zurückgeblieben sein.

Mit dem auf die beschriebene Weise gewonnenen Adenin habe ich nun zunächst einige Fütterungsversuche ausgeführt:

Versuch IV. Dem gleichen Hunde wie in Versuch III, welcher am 21. Juni 600 ccm Harn mit 0,022, am 22. Juni 500 ccm Harn mit 0,025 Harnsäure ausgeschieden hatte, werden 4 g Adenin in 150 ccm Wasser unter Zusatz von etwas Salzsäure gelöst mittels Schlundsonde einverleibt. 2 Stunden danach erfolgt Erbrechen; das Erbrochene wird sofort wieder

1) s. E. Fischer, Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. XXX, S. 2245 und 2253, 1897. Durch den Krystallwassergehalt des Sulfates unterscheidet sich nach Fischer hauptsächlich das Guanin (2-Amino-6-Oxypurin) von dem isomeren 6-Amino-2-Oxypurin. Da diese letztere nach seiner Constitution als das nächste Oxydationsproduct des Adenins (6-Aminopurins) anzusehen ist, so hält es Fischer nicht für unwahrscheinlich, dass man dasselbe auch als Product des thierischen Organismus finden könnte. Doch wäre es nach neueren Untersuchungen von Fischer (Ueber eine scheinbare intramoleculare Umlagerung der Puringruppe, Bericht d. deutsch. chem. Gesellschaft Bd. XXXI, S. 542, 1898) auch nicht unerklärlich, wenn das Adenin bei der Oxydation direct in Guanin übergeht, so dass auch das Vorkommen des Guanins neben dem Adenin auf eine Oxydation des letzteren zurückgeführt werden könnte.

mittels Schlundsonde eingegeben, nach 1 Stunde aber zum Theil wieder erbrochen. Die erbrochenen Massen werden sorgfältig gesammelt und aus denselben später 1,3 g Adenin wiedergewonnen.

In den nächsten 10 Stunden wurden 330 ccm Harn von neutraler Reaction entleert, welcher, nach dem Ausfällen mit Magnesiamischung, mit Silber einen sehr reichlichen Niederschlag gab. Aus demselben wurden aber nur 0,015 Harnsäure gewonnen neben einer in heissem Wasser, sowie in Salzsäure leicht löslichen Base.

In den folgenden 14 Stunden entleerte der Hund noch 550 ccm Harn, welcher einen weniger reichlichen Silberniederschlag gab und 0,0148 Harnsäure enthielt.

Die bei der Darstellung der Harnsäure aus beiden Harnportionen in salzsaurer Lösung gebliebene Base wurde durch Neutralisation mit Ammoniak ausgefällt und aus heissem Wasser umkrystallisirt. Auf diese Weise wurden 0,174 einer Substanz dargestellt, die alle Eigenschaften des Adenins zeigte ¹⁾. 0,0778 g von dieser Substanz ergaben bei der Stickstoffbestimmung 0,0399, entsprechend 51,3 Proc. N.

Der Hund war in den nächsten Tagen sehr krank, erbrach wiederholt und frass nichts. Von dem Harn konnten nur einzelne Portionen gewonnen werden, die mit Silber kaum einen Niederschlag gaben.

Allmählich erholte sich das Thier wieder und machte einen vollkommenen normalen Eindruck, als es mehrere Monate später noch einmal zu einem Fütterungsversuche mit Adenin verwendet wurde.

Versuch V. Am 10. November hatte der Hund, der seit 3 Tagen mit 250 g Fleisch, 150 g Brot und 200 ccm Milch gefüttert wurde, 155 ccm Harn von spec. Gew. 1067 und saurer Reaction entleert, der 0,0302 Harnsäure enthielt.

Am 11. November 350 ccm Harn vom spec. Gew. 1057 mit 0,052 Harnsäure.

Das Thier erhält nun von 10 Uhr vormittags bis 4 Uhr nachmittags stündlich 0,5 Adenin in Pulverform in Fleisch eingewickelt, im ganzen 3,5 g. Gegen 7 Uhr abends erbricht der Hund. Aus dem Erbrochenen werden später 1,16 g Adenin wiedergewonnen. Um 8 Uhr säuft der Hund Milch, die er nicht erbricht.

Am 12. November 475 ccm Harn vom spec. Gew. 1013 und schwach alkalischer Reaction. In diesem ist Harnsäure überhaupt nicht mit Sicherheit nachweisbar. Dagegen werden an 0,1 g unverändertes Adenin aus dem Harne wiedergewonnen.

Am 13. November 320 ccm Harn, spec. Gew. 1020. Harnsäure nicht sicher nachweisbar.

In den nächsten Tagen erbricht der Hund fortwährend, nimmt schliesslich gar keine Nahrung mehr zu sich und stirbt am 20. November. Bei der Section finden sich ausser einer intensiven Entzündung der Magen- und Darmschleimhaut noch Veränderungen an den Nieren, von welcher später noch ausführlicher die Rede sein soll.

1) Kossel (Ueber das Adenin. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. XII, S. 241) hat nach Eingabe von 1 g salzsauren Adenins aus dem Harn 0,139 g der salpetersauren Base darstellen können.

Obgleich also, wie aus dem Auftreten des Adenins im Harne ersichtlich war, grössere Mengen der verfütterten Substanz resorbiert sein mussten, war eine entsprechende Zunahme der Harnsäureausscheidung nach der Adeninfütterung nicht zustande gekommen.

Ein ähnliches Resultat ergab noch ein weiterer Fütterungsversuch mit dem aus Lachssperma dargestellten Adenin, der an einem anderen Hunde angestellt wurde:

Versuch VI. Ein 7,5 kg schwerer Hund erhielt 2,0 g Adenin in vierstündlichen Dosen von je 0,5 in Milch gelöst. Erbrechen trat zunächst nicht ein. Erst 6 Stunden nach der letzten Adeningabe, als der Hund seine Fleischportion gefressen hatte, wurde diese wieder erbrochen. Adenin war aber im Erbrochenen nicht mehr nachweisbar.

In den nächsten 24 Stunden wurden 880 ccm Harn entleert, in welchem nur Spuren von Harnsäure nachweisbar waren.

Nach 8 Tagen starb der Hund unter ähnlichen Erscheinungen, wie der vorige, und auch bei der Section wurden die gleichen Veränderungen insbesondere an der Darmschleimhaut und an den Nieren gefunden.

In Anbetracht der negativen Ergebnisse dieser Versuche mit Adeninfütterung verzichtete ich fürs Nächstste darauf, ein so kostbares und schwer zu erlangendes Material, wie die Salmonucleinsäure und deren Spaltungsproducte, an Hunde zu verfüttern und ging zu Versuchen mit Kalbsthymus über.

III. Verhalten der Harnsäureausscheidung und Auftreten von Allantoin nach Fütterung mit Kalbsthymus.

Ueber das Verhalten der Harnsäureausscheidung bei Hunden nach Fütterung mit Kalbsthymus liegen bereits Untersuchungen vor. Insbesondere hat Luethje¹⁾ genauere Beobachtungen hierüber angestellt: Bei einem Hunde von 41 kg Gewicht, der in einer acht-tägigen Fütterungsperiode mit 500 g Fleisch, 1 Liter Milch und 350 g Brot eine durchschnittliche Harnsäureausscheidung von 0,2665 gezeigt hatte, stieg der Durchschnittswerth der Harnsäure, als in der nächsten Woche das Pferdefleisch durch 500 g Kalbsthymus ersetzt wurde, auf 0,3948 pro Tag. Nach täglicher Verabfolgung von je 1000 g Kalbsthymus schied das Thier am ersten Tage 0,3593, am zweiten 0,6328 Harnsäure aus; nach Einverleibung von 1480 g Kalbsthymus sogar 0,7443 g Harnsäure, so dass, wie Luethje

1) Luethje, Ueber Bleigicht und den Einfluss der Bleiintoxication auf die Harnsäureausscheidung. Zeitschrift f. klin. Med. Bd. XXIX, S. 266, 1896. — Klemperer, Untersuchungen über Gicht und harnsaure Nierensteine. Berlin 1896. S. 80.

bemerkt, „die Fähigkeit des Hundeorganismus, aus Nahrungsnuclein Harnsäure zu bilden, eine ziemlich unbeschränkte zu sein schien.“

Ganz ähnliche Resultate erhielt auch ich bei der gleichen Versuchsanordnung. Nur waren die erhaltenen Harnsäurewerthe geringer, da ich an kleineren Thieren experimentirte. Auch sind die individuellen Verschiedenheiten der Harnsäureausscheidung in Betracht zu ziehen, die, wie bekannt, bei Hunden noch grösser sind, als bei Menschen.

Als Beispiele mögen folgende beiden Versuche angeführt werden:

Versuch VII. Ein Hund von 9 kg Gewicht erhielt seit dem 5. December 1896 täglich 200 g Pferdefleisch, 150 g Brot und 200 g Milch. Vom 9. December an wurde das Fleisch durch 250 g Kalbsthymus ersetzt. Das Verhalten der Harnsäure- und Phosphorsäureausscheidung ist aus folgender Tabelle ersichtlich:

Tabelle II.

Datum	Harn- menge in cem	Harnsäure	Phosphor- säure	Nahrung
8. Dec.	240	0,013	0,646	200 g Fleisch, 150 g Brot, 200 g Milch
9. Dec.	260	0,018	0,702	desgl.
10. Dec.	470	0,152	3,15	250 g Thymus, 150 g Brot, 200 g Milch
11. Dec.	325	0,104	2,43	desgl.
12. Dec.	360	0,134	2,70	desgl.

Versuch VIII. Ein Hund von 7 kg Gewicht, der bei der gleichen Fütterung mit Fleisch, Milch und Brot in 24 Stunden 300 cem Harn mit 0,024 Harnsäure ausgeschieden hatte, erhält im Laufe zweier Tage 1000 g Kalbsthymus. Am zweiten Tage tritt Diarrhoe ein. In 48 Stunden wurden 550 cem Harn entleert, die 0,520 Harnsäure enthalten.

So deutlich nun auch die Steigerung der Harnsäureausscheidung nach der Thymusfütterung war, so waren die absoluten Mengen der Harnsäure bei den Hunden doch erheblich geringer als in den Beobachtungen am Menschen, bei welchen z. B. Weintraud nach 750—1000 g Kalbsthymus eine Harnsäureausscheidung bei zu 2½ g beobachtet hatte. Allerdings erscheint auch beim Menschen nur ein Bruchtheil (nach Weintraud etwa ¼—⅕) des im Thymusgewebe in Form von Xanthinbasen enthaltenen Stickstoffs als Harnsäure im Harn. Weintraud erörtert die Möglichkeiten, die zur Erklärung dieses Verhaltens herangezogen werden könnten: Einmal wäre es denkbar, dass der grösste Theil der Xanthinbasen direct zu Harnstoff verbrennt und nur ein Theil in Harnsäure umgewandelt wird, „vielleicht weil nur ein Theil an diejenigen Stätten hinkommt,

wo im Organismus die Harnsäure gebildet wird.“ Zweitens könnte man annehmen, dass sämtliche resorbirten Xanthinbasen in Harnsäure umgewandelt werden, und ein Theil der gebildeten Harnsäure im Organismus wieder zerstört wird. Die bekannten Versuche von Frerichs und Wöhler — welche Weintraud¹⁾ auch durch Untersuchungen am Menschen bestätigen konnte — bewiesen jedenfalls, dass sehr grosse Harnsäuremengen im Organismus weiter zer setzt werden können. Doch erscheine es alsdann auffallend, dass nicht die ganze im Uebermaass aus den Xanthinkörpern gebildete Harnsäure wieder zerstört und in Harnstoff umgewandelt wird.

Umber²⁾, welcher bei Fütterung mit verschiedenen nucleinreichen Organen (Thymus, Leber, Nieren, Hirn) sehr abweichende Resultate in Bezug auf die Harnsäureausscheidung erhalten hatte, glaubte, die Differenz auf die in den einzelnen Organen verschiedene Bindungsweise der Nucleinsäure mit dem Eiweiss (fest-, lockergebundene und freie Nucleinsäure³⁾ zurückführen zu können.

Luethje⁴⁾, der bei demselben Hunde, den er mit Kalbsthymus gefüttert hatte, nach Fütterung mit Milz eine Zunahme der Harnsäureausscheidung vermisste, glaubte dieses Verhalten wieder in anderer Weise erklären zu müssen.

Bei allen diesen Erörterungen ist man aber bis jetzt immer nur von der Voraussetzung ausgegangen, dass ausser der Harnsäure und den im Harn gefundenen Purinbasen nur der Harnstoff als Endproduct des Nucleinbasenumsatzes in Betracht kommt.

Bei meinen Versuchen mit Thymusfütterung zeigte sich aber sehr bald, dass noch etwas anderes dabei zu berücksichtigen war:

Als ein Theil des nach der Thymusfütterung entleerten Harnes mit Essigsäure angesäuert längere Zeit in der Kälte stehen geblieben war, fand sich auf dem Boden des Gefässes ein krystallinisches, fast farbloses Sediment, in Form von Prismen, Nadeln und sternförmigen Drusen, die sich in kaltem Wasser schwer, aber sehr leicht in heissem Wasser lösten und aus einer organischen stickstoffhaltigen Substanz bestanden.

1) Weintraud, Ueber Harnsäure im Blute. Wiener klin. Rundschau 1896. Nr. 1.

2) Umber, Ueber den Einfluss nucleinhaltiger Nahrung auf die Harnsäureausscheidung. Zeitschrift f. klin. Medicin Bd. XXIX, 1896. — Klemperer's Untersuchungen über Gicht u. s. w. Berlin 1896. S. 16.

3) s. Kossel, Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. VII. 1882/83.

4) Luethje, Beitrag zur Kenntniss der Alloxurkörperausscheidung. Zeitschrift f. klin. Med. Bd. XXXI. — Klemperer's Untersuchungen S. 141.

Nach Fütterung mit grösseren Mengen von Kalbsthymus schieden sich die Krystalle bisweilen schon spontan beim Stehen des sauren Harnes aus. Die Ausbeute war aber grösser, wenn man den Harn auf ein kleines Volumen einengte und mit Essigsäure angesäuert in der Kälte mehrere Tage stehen liess.

Die aus grösseren Harnmengen gesammelte und mehrfach aus heissem Wasser umkrystallisirte Substanz zeigt folgende Eigenschaften:

Sie löst sich bei Zimmertemperatur in etwa 200 Theilen Wasser, sehr viel leichter in (ungefähr 30 Theilen) kochendem Wasser, sehr leicht in Alkalien.

Bei langsamer Krystallisation aus heissem Wasser bildet sie grosse monokline Prismen, häufig mit aufgesetzten Büscheln von Pyramiden, bisweilen Zwillingsformen.

In Alkohol und Aether ist die Substanz unlöslich, wird jedoch aus der wässrigen Lösung durch Alkohol oder Alkoholäther nicht gefällt. Beim Erhitzen bräunt sie sich und schmilzt unter starker Gasentwicklung etwa bei 230° .

Sie wird weder durch neutrales, noch durch basisches Bleiacetat gefällt, auch nicht durch Bleiessig und Ammoniak. Ebenso wenig durch Kupfer oder Baryt. Auch mit Phosphorwolframsäure in saurer Lösung tritt keine Fällung ein.

Mit salpetersaurem Quecksilberoxyd giebt die Lösung der Substanz schon in starker Verdünnung einen weissen, flockigen Niederschlag.

Salpetersaures Silber giebt zunächst keinen Niederschlag; bei vorsichtigem Zusatz von Ammoniak entsteht aber eine flockige Fällung, die sich in geringem Ueberschuss von Ammoniak wieder auflöst, auf erneuten Zusatz von salpetersaurem Silber aber von neuem wieder auftritt.

Nach anhaltendem Kochen mit Fehling'scher Lösung tritt nach einiger Zeit eine geringe Ausscheidung von Kupferoxydul ein.

Beim Kochen mit concentrirter Kalilauge entweicht Ammoniak. Die mit Essigsäure und Chlorcalcium versetzte Lösung giebt alsdann einen Niederschlag von oxalsaurem Kalk.

Mit einem Tropfen concentrirter wässriger Furfurolösung und concentrirter Salzsäure übergossen, giebt die Substanz nach einiger Zeit deutliche Violettfärbung (Schiff'sche Reaction)¹⁾.

Die Murexidprobe fällt negativ aus.

Bei 100° im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet, giebt die lufttrockene Substanz kein Krystallwasser ab.

0,1334 der Substanz ergeben bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl 0,0480, entsprechend 36,0 Proc. N.

0,1024 ergeben 0,0369, entsprechend 36,1 Proc. N.

0,1810 ergeben bei der Verbrennung 0,2056 CO_2 und 0,0693 H_2O , entsprechend 30,8 Proc. C und 4,2 Proc. H.

0,2039 ergeben 0,2275 CO_2 und 0,0741 H_2O , entsprechend 30,4 Proc. C und 4,0 Proc. H.

1) Schiff, Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch. Bd. X, S. 773, 1877.

Von der durch Fällen mit Silbernitrat und Ammoniak gewonnenen, im Vacuum über Schwefelsäure getrockneten Silberverbindung hinterlassen 0,2491 beim Verbrennen im Porzellantiegel 0,1010 Silber, entsprechend 40,54 Proc. Ag.

Berechnet für $C_4N_4H_6O_3$			Gefunden	
C	30,4	Proc.	30,6	Proc.
N	35,44	"	36,0	"
H	3,8	"	4,1	"
Ag	40,75	"	40,54	"

Es unterliegt somit keinem Zweifel, dass die gefundene Substanz Allantoin war.¹⁾

Das Auftreten grosser Mengen von Allantoin im Harn nach Fütterung mit Kalbsthymus erwies sich bei Hunden als eine ganz constante Erscheinung.²⁾ Bei 5 verschiedenen Thieren, an welchen wiederholt Fütterungsversuche dieser Art ausgeführt wurden, wurde die Allantoinausscheidung in keinem Falle vermisst. Die ausgeschiedenen Mengen waren nicht in allen Fällen gleich gross, doch in der Regel sehr beträchtlich.

So konnten bei einem 10 kg schweren Hunde, der 500 g Kalbsthymus erhalten hatte, aus den 620 ccm Harn, die in den nächsten 30 Stunden entleert wurden, 2,0 g Allantoin rein dargestellt werden.

Ein anderer 9 kg schwerer Hund entleerte nach der Fütterung mit der gleichen Menge Kalbsthymus in 24 Stunden sogar 2,88 g Allantoin, wobei aber die Harnsäureausscheidung nur 0,036 betrug.

Dagegen konnten aus der 48 stündigen Harnmenge (550 ccm) eines 7 kg schweren Hundes (s. Vers. VIII) nach Fütterung von 1000 g Thymus — worauf allerdings am zweiten Tage Diarrhoe eingetreten war — nur 1,7 g Allantoin gewonnen werden, während die in dem gleichen Zeitraume ausgeschiedene Harnsäuremenge 0,520 g betrug.

Bei allen diesen Thieren war es nicht gelungen, an den Tagen, an welchen sie statt des Kalbsthymus Pferdefleisch erhalten hatten,

1) Die gleiche Anzahl von Atomen von C und N im Molecül, sowie das Auftreten nach der Thymusfütterung, liessen mich anfangs an die Möglichkeit denken, dass die Substanz, die ich nicht gleich mit Allantoin zu identificiren vermochte, ein directes Derivat des Adenins bildete. Ich glaubte, dass möglicherweise eine Imidopseudoharnsäure vorlag, die mit der von Traube (Bericht der Deutsch. chem. Gesellsch. Bd. XXVI, S. 2558) synthetisch dargestellten vielleicht isomer wäre (s. Verhandl. d. XVI. Congresses f. innere Medicin, S. 271, Wiesbaden 1898 und Centralbl. f. klin. Med. Nr. 19, 1898). Als ich indessen später nach Fütterung von Adenin die Substanz im Harn vermisste, sie dagegen nach Hypoxanthinfütterung auftreten sah, erwies sich jene Annahme als unwahrscheinlich, und es gelang mir nun nachzuweisen, dass es sich um Allantoin handelte.

2) Das Vorkommen grösserer Mengen von Allantoin im Harn von Hunden nach Thymusfütterung ist mittlerweile auch durch eine soeben erschienene Mittheilung von Theodor Cohn bestätigt (Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. XXV, Heft 5 und 6, S. 507, 1898).

durch einfaches Stehenlassen des eingeeengten, mit Essigsäure angesäuerten Harnes Allantoin nachzuweisen.

VI. Bedeutung der Allantoinausscheidung im Harn und Verhalten dieser Substanz im Organismus des Hundes und des Menschen.

Das als Oxydationsprodukt der Harnsäure¹⁾ bekannte Allantoin [Glyoxyldiureid²⁾ $\text{CO} < \begin{array}{c} \text{NH}-\text{CH}-\text{NH} \\ | \quad | \\ \text{NH}-\text{CO} \quad \text{NH}_2 \end{array} > \text{CO}$], welches von Buniva und Vauquelin³⁾, Fourcroy⁴⁾ und Lassaigue⁵⁾ in der Allantoinflüssigkeit der Kühe, sowie von Wöhler⁶⁾ im Harn saugender Kälber nachgewiesen war, ist im Harn von Hunden zuerst von Frerichs und Städeler⁷⁾ gefunden worden, und zwar zunächst nur nach künstlich erzeugter Dyspnoe. Meissner⁸⁾ fand alsdann

1) Liebig und Wöhler, Untersuchungen über die Natur der Harnsäure. Ann. d. Chemie u. Pharm. Bd. XXVI, S. 295, 1838. — Schlieper, Ueber die Oxydation der Harnsäure mittelst Kaliumeisencyanids. Ann. d. Chemie u. Pharm. Bd. LXVII, S. 219, 1848. — Goryp-Besanez, Ueber die Einwirkung des Ozons auf organische Verbindungen. Ibid. Bd. CX, S. 94, 1859. — Gibbs, Ueber die Einwirkung der salpetrigsauren Alkalien auf Harnsäure und die Derivate derselben. Ibid. Suppl.-Bd. VII, S. 337, 1870. — Mulder, Ueber Allantoin und davon abgeleitete Körper. Ibid. Bd. CLIX, S. 349, 1871. — Seligsohn, Ueber die Einwirkung von Ozon auf Harnsäure und Oxamid. Centralbl. f. die medicin. Wissensch. S. 414 und 434, 1873. — Claus und Emde, Zur Kenntniss der Harnsäuregruppe. Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch. Bd. VII, S. 226, 1874.

2) s. Grimaux, Sur la synthèse de l'allantoïne. Comptes rendus de l'Acad. de Scienc. T. LXXXIII, p. 62, 1876. — Ann. de Chim. et de Physique S. 5, T. XI, p. 389, 1877.

3) Buniva et Vauquelin (Sur l'eau de l'amnios de femme et de vache. Ann. der Chimie S. 1, T. XXXIII, p. 269, 1799) nannten den von ihnen entdeckten Körper Amnionsäure.

4) Fourcroy, De la liqueur de l'amnios. Système des Connaissances chimiques T. X, p. 84. Paris 1801.

5) Lassaigue (Nouvelles recherches sur la composition des eaux de l'allantoïde et de l'amnios de la vache. Ann. de Chim. et de Physique S. 2, T. XVII, p. 295, 1821) nannte die Substanz Allantoissäure. Erst Liebig (Poggendorff's Ann. d. Physik u. Chemie Bd. XXI, S. 34, 1831) betonte, dass es sich eigentlich nicht um eine Säure handelte, und führte den Namen Allantoin ein.

6) Wöhler, Allantoin im Kälberharn. Ann. d. Chemie u. Pharm. Bd. LXX, S. 229, 1849. — Nachrichten d. k. Gesellsch. der Wissensch. zu Göttingen Bd. V, S. 61, 1849.

7) Frerichs und Städeler, Ueber das Vorkommen von Allantoin im Harn bei gestörter Respiration. Müller's Archiv f. Anat. u. Physiol. S. 393, 1854.

8) Meissner, Beiträge zur Kenntniss des Stoffwechsels im thierischen Organismus. VI. Ueber die Ausscheidung von Kreatin, Kreatinin und einigen anderen stickstoffhaltigen Umsatzproducten bei Säugethieren. Zeitschrift f. ration. Med. Bd. XXXI, S. 308, 1868.

kleine Mengen von Allantoin im Harne eines Hundes bei Fleischfütterung, grössere Mengen im Harne mehrerer Hunde, die mit Brot gefüttert waren, vermisste die Substanz aber nach Fütterung mit Kartoffeln und Fett.

Später machte Salkowski¹⁾ die Beobachtung, dass verfütterte Harnsäure bei Hunden zum grossen Theile als Allantoin im Harn erscheint. Er bestätigte auch das gelegentliche Auftreten dieser Substanz im Hundeharn nach Fleischfütterung²⁾ und machte darauf aufmerksam, dass bei gleicher Zusammensetzung der Nahrung bei den einzelnen Hunden sehr grosse Differenzen in Bezug auf die Ausscheidung des Allantoins beobachtet werden, und zwar schiene zwischen diesen letzteren und der Menge der ausgeschiedenen Harnsäure ein reciprokes Verhältniss zu bestehen.

Trotz dieses Befundes hat man bei fast allen neueren Untersuchungen über Harnsäure dem etwaigen Auftreten von Allantoin keine besondere Aufmerksamkeit geschenkt. Nur Stadthagen³⁾ hat bei seinen Fütterungsversuchen mit Guanin den Harn auch auf Allantoin untersucht, ohne indessen diese Substanz nachweisen zu können.

Wenn wir von einzelnen gelegentlichen Beobachtungen⁴⁾ absehen, hat man im allgemeinen das Allantoin im Harne vollkommen übersehen, und den in dieser Form ausgeschiedenen Stickstoff meist ohne weiteres als Harnstoff in Rechnung gebracht. Es liegt dieses an den Eigenschaften dieses Körpers, der bei den gebräuchlichen Fällungs- und Extractionsmethoden des Harnes sich dem Nachweis leicht entzieht. Bei der Fällung der Harnsäure und Xanthinbasen durch Silber bleibt das in Wasser fast unlösliche Allantoinsilber im

1) Salkowski, Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch. Bd. IX, S. 719, 1876.

2) Salkowski, Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch. Bd. XI, S. 500, 1878. Bei einem Hunde, der mit Fleisch gefüttert war, fand Salkowski in der Harnmenge von 4 Tagen 0,8 g Allantoin. Bei der Untersuchung von acht anderen Hundeharnen wurde aber nur noch in einem Falle Allantoin gefunden.

3) Stadthagen, Ueber das Vorkommen von Harnsäure in verschiedenen thierischen Organen, ihr Verhalten bei der Leukämie und die Frage ihrer Entstehung aus den Stickstoffbasen. Virchow's Archiv Bd. CIX, S. 416, 1887.

4) So fand Borissow (Ueber die giftige Wirkung des Diamids, des Dibenzoyldiamids und über das Vorkommen des Allantoins im Harne, Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. XIX, S. 499, 1894) grosse Mengen von Allantoin (bis zu 1,2 g) im Harne eines Hundes nach Vergiftung mit Diamidsulfat. — Colasanti (Die Bildung des Allantoins im Körper. Moleschott's Untersuchungen zur Naturlehre Bd. XV, S. 189, 1895) beobachtete das Auftreten von Allantoin im Harne von Kaninchen, die künstlich nach Pasteur's Methode mit dem Virus der Tollwuth geimpft waren, und zwar nur im letzten Stadium der Krankheit, wenn die Thiere in den paralytischen Zustand verfielen.

überschüssigen Ammoniak gelöst. Die Unlöslichkeit des reinen Allantoins in absolutem Alkohol und Aether kommt für die Analyse des Harnes auch nur wenig in Betracht, da sie sich nur auf die bereits krystallinisch ausgeschiedenen Massen bezieht, die Substanz aber bei Gegenwart des Harnstoffes und der zahlreichen Extractivstoffe des Harnes eine grosse Neigung hat, übersättigte Lösungen zu bilden, die durch Alkohol nicht gefällt werden und selbst auf Zusatz von Aether nicht immer krystallinische Auscheidungen zeigen.

Die bis jetzt angewandten Methoden zur Isolirung und zum Nachweis des Allantoins gewähren auch nicht annähernd eine quantitative Ausbeute. Es ist aber auch mir einstweilen nicht gelungen, eine vollkommen befriedigende Methode für eine genauere quantitative Bestimmung des Allantoins auszuarbeiten. Vorläufig habe ich aus allantoinreichem Harn durch kein Verfahren eine grössere Ausbeute erhalten, als durch längeres Stehenlassen des auf ein kleines Volumen (etwa $\frac{1}{8}$ — $\frac{1}{10}$) eingeeengten und mit Essigsäure angesäuerten Harnes in der Kälte — allenfalls nach Ausfällung desselben mit basisch essigsaurem Blei und Entbleiung des Filtrates durch Schwefelwasserstoff. Wesentlich ist dabei die niedrige Temperatur, da von dieser die Löslichkeit des Allantoins sehr erheblich beeinflusst wird. Wichtig ist es ferner, die Lösungen lange genug stehen zu lassen, weil oft noch nach Wochen sich Allantoinkrystalle ausscheiden. Da, wo nicht zu grosse Mengen von Allantoin zu erwarten sind, kann man auch den eingedampften Harn mit heissem Alkohol ausziehen, und das eingeengte, eventuell mit etwas Aether versetzte Alkoholextract zur Krystallisation stehen lassen.

In den Mutterlaugen muss bei allen diesen Verfahren selbstverständlich noch Allantoin gelöst bleiben. Man kann sich leicht davon überzeugen, wenn man nach Ausfällung der Lösungen mit Kalk, dieselben mit Kalilauge einige Zeit auf dem Wasserbade digerirt. Man erhält dann noch ziemlich erhebliche Mengen von Oxalsäure, die offenbar aus dem Allantoin entstanden ist.¹⁾ Doch gelingt es

1) Ob die Abspaltung von Oxalsäure beim Erwärmen mit Kalilauge sich vielleicht, unter geeigneten Vorsichtsmaassregeln, zu einem Verfahren für die quantitative Allantoinbestimmung verwerthen liesse, muss durch besondere Untersuchungen noch festgestellt werden. Ich habe mich einstweilen davon überzeugen können, dass in normalem menschlichen Harn, nach Ausfällung der präformirten Oxalsäure, durch Erwärmen mit Kalilauge noch ziemlich erhebliche Mengen (bis zu 0,01 Proc. und darüber) von Oxalsäure erhalten werden können. Aus welchen Substanzen diese Oxalsäure abgespalten wird, ist noch zu entscheiden. Die Menge der Oxalursäure, die vielleicht in Betracht kommen könnte, dürfte zu gering sein, um so erhebliche Oxalsäuremengen zu liefern.

in der Regel nicht, diese in den Mutterlaugen enthaltenen Allantoinreste durch irgend eine der empfohlenen Methoden zu isoliren.

Das einmal auskrystallisirte Allantoin kann ohne wesentliche Verluste mit wenig kaltem Wasser und mit Alkohol gewaschen und dann aus heissem Wasser umkrystallisirt werden.

In Ermangelung einer brauchbaren Methode der quantitativen Bestimmung und bei der Unsicherheit selbst des qualitativen Nachweises kleinerer Mengen, konnten selbstverständlich einstweilen nur aus sehr grossen Differenzen irgend welche sicheren Schlüsse gezogen werden. Es ergab sich daraus die Nothwendigkeit, zu den Fütterungen möglichst grosse Substanzmengen zu verwenden. Die hierbei erzielten Resultate waren dann allerdings so augenfällig, dass selbst mangelhafte Untersuchungsmethoden zur Feststellung derselben ausreichen mussten. —

Durch die Schwierigkeiten für den Nachweis des Allantoins erklären sich auch die unsicheren Angaben, die über das Vorkommen dieser Substanz im menschlichen Harn vorliegen. Man hat zunächst Allantoin im Harne neugeborener Kinder innerhalb der ersten 8 Tage nach der Geburt gefunden (Prout¹⁾). Hier mag neben dem stärkeren Nucleinumsatz des Neugeborenen, der sich auch in der relativ grösseren Harnsäureausscheidung ausspricht (s. Camerer²), der geringe Gehalt des Harnes an anderen Bestandtheilen den Nachweis erleichtert haben. Gusserow³) fand ferner Allantoin im Harne Schwangerer. Aber auch im Harne von Männern konnten Ziegler und Hermann⁴) geringe Mengen davon nachweisen, so dass Gusserow die Vermuthung aussprach, dass das Allantoin zu den normalen Bestandtheilen des menschlichen Harnes zu rechnen sei. Auch Pouchet⁵) konnte das Vorkommen kleiner Mengen von Allantoin im Harne von Männern und das constante Vorkommen grösserer Mengen im Harne schwangerer Frauen bestätigen. In zwei pathologischen Fällen (bei einem Diabetes insipidus und einer schweren Hysterie) fand er sogar ziemlich beträchtliche

1) Prout, Observations on the nature of some of the principles of the urine. Med. chir. Transact. Vol. VIII, p. 526, 1818.

2) Camerer, Beitrag zur Erforschung der stickstoffhaltigen Bestandtheile des menschlichen Urins, insbesondere der sog. Alloxrkörper. Zeitschrift f. Biolog. Bd. XXXV, S. 206, 1898.

3) Gusserow, Zur Lehre vom Stoffwechsel des Fötus. Archiv f. Gynäkologie Bd. III, S. 269, 1871.

4) Ziegler und Hermann, citirt bei Gusserow, l. c.

5) Pouchet, Contribution à la connaissance des matières extractives de l'urine. Thèse de Paris 1880, S. 28 und 37.

Mengen dieser Substanz. Von sonstigen pathologischen Befunden am Menschen wäre noch zu erwähnen, dass Naunyn¹⁾ in dem Inhalt einer Ovarialcyste und Moscatelli²⁾ in der Ascitesflüssigkeit bei Lebercirrhose Allantoin nachgewiesen haben.

Immerhin schien aus den bisher vorliegenden Untersuchungen hervorzugehen, dass in Bezug auf die Allantoinausscheidung zwischen dem Organismus des Menschen und dem des Hundes gewisse Differenzen bestehen. Es war daher von Interesse, festzustellen, ob auch beim Menschen der Nucleingehalt der Nahrung auf die Grösse der Allantoinausscheidung von Einfluss ist.

Versuch IX. In dem Harne eines 30jährigen Mannes von 66 kg Körpergewicht, der an 2 Tagen je 500 g Kalbsthymus verzehrt hatte, gelang es mir überhaupt nicht, Allantoin nachzuweisen. Die Harnsäureausscheidung, die vorher bei diesem Manne bei gemischter Spitalkost 0,6—0,7 g pro Tag betragen hatte, war nach dem Thymusgenuss bis auf 1,3, bez. 1,5 g gestiegen. Der mit Blei angefällte und eingeeengte Harn ergab aber selbst nach mehrwöchentlichem Stehen in der Kälte keine Allantoinausscheidung. Ebensowenig konnte durch Extraction mit Alkohol und Fällung mit Aether Allantoin nachgewiesen werden.

Der Unterschied in dem Verhalten der Hunde gegenüber dem Menschen nach Einverleibung einer nucleinreichen Nahrung schien also im wesentlichen darin zu bestehen, dass bei den Hunden erheblich weniger Harnsäure als beim Menschen, an Stelle derselben aber beträchtliche Mengen von Allantoin zur Ausscheidung gelangen.

Da nun durch die Untersuchungen von Salkowski erwiesen war, dass im Organismus der Hunde Harnsäure in Allantoin umgewandelt werden kann³⁾, so mochte das Auftreten des Allantoins im Hundeharn nach der Thymusfütterung so zu deuten sein, dass

1) Naunyn, Ueber die Chemie der Transsudate und des Eiters. Archiv f. Anat. u. Physiologie, S. 185, 1865.

2) Moscatelli, Beiträge über den Zucker- und Allantoingehalt im Harne und in der Ascitesflüssigkeit bei Lebercirrhose. Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. XIII, S. 202, 1889.

3) Diese Beobachtung von Salkowski habe übrigens auch ich in 2 Fällen bestätigen können: der Hund, welcher zu Versuch 7 gedient hatte, und in dessen Harn bei der gemischten Nahrung Allantoin nicht nachweisbar war, erhielt an einem Tage 5,0 g Harnsäure mit dem Futter. Aus dem Urin der nächsten beiden Tage wurden dargestellt: 0,1615 g Harnsäure und 0,763 g Allantoin. — Ein ähnliches Resultat ergab ein 2. Versuch an einem anderen Hunde, in welchem die Menge des Allantoins nicht genauer bestimmt wurde.

Bei einem leukämischen Menschen hat Stadthagen (l. c. S. 411) auch nach Eingabe von 5 g harnsaurem Natron kein Allantoin im Harne gefunden. Er betont aber die Unvollkommenheit der Methoden.

beim Hunde die aus den Nucleinen zunächst gebildete Harnsäure zum grössten Theile gleich weiter zu Allantoin oxydirt wurde.

Immerhin blieb es auffallend, dass die so grossen Mengen von Allantoin im Organismus des Hundes der weiteren Umwandlung im Harnstoff entgangen waren. Es musste dieses die Frage nahelegen, ob nicht etwa eine Differenz zwischen dem Organismus des Menschen und dem des Hundes auch darin zu suchen wäre, dass bei dem ersteren die weitere Zersetzung des Allantoins in Harnstoff leichter von statten geht, als bei dem letzteren.

Zwei Versuche, die ich zur Entscheidung dieser Frage angestellt habe, scheinen zu Gunsten dieser Möglichkeit zu sprechen:

Versuch X. Ein 9 kg schwerer Hund erhält 5,0 g Allantoin in fünf zweistündlichen Dosen von 1,0 g, die, in Milch gelöst, freiwillig eingenommen werden. Die in den nächsten 24 Stunden entleerten 1030 ccm Harn von spec. G. 1012 enthalten ein reichliches krystallinisches Sediment von Allantoin. Auf dem Filter gesammelt und aus heissem Wasser umkrystallisirt, wiegt dasselbe 1,29 g. Aus dem Filtrat scheiden sich nach dem Einengen noch 2,16 g Allantoin aus. Da in der Mutterlauge auch noch Allantoin enthalten war, so waren jedenfalls mehr als 70 Proc. der eingegebenen Substanz an demselben Tage unverändert wieder ausgeschieden worden. Der Urin des nächsten Tages enthielt auch noch Allantoin, doch wurde die Menge desselben nicht genauer bestimmt, da ein Theil des Harnes verloren ging.

Versuch XI. Dem in Versuch IX erwähnten Manne werden ebenfalls 5 g Allantoin in 10 stündlichen Dosen von 0,5 g eingegeben. Aus dem Urin der nächsten 24 Stunden konnte nur 0,878 g Allantoin wiedergewonnen werden. Am nächsten Tage war kein Allantoin mehr im Harn nachweisbar.

Während also bei dem Hunde der weitaus grösste Theil der eingegebenen Allantoins im Harn wieder erschienen war, so dass es überhaupt fraglich erscheinen konnte, ob eine Zersetzung dieser Substanz im Organismus des Hundes möglich ist, war beim Menschen kaum ein Fünftel der verfütterten Allantoinmenge im Harn wiedergefunden worden.

Selbstverständlich reichen diese vereinzeltten Versuche nicht aus, um die aufgeworfene Frage endgültig zu entscheiden. Immerhin dürften die hier erwähnten Momente genügen, um die Nothwendigkeit zu begründen, bei den Untersuchungen über die Harnsäurebildung und den Nucleinumsatz auch dem Verhalten der Allantoinausscheidung mehr Beachtung zu schenken. Denn selbst, wenn die Bedeutung dieser Substanz im normalen Organismus des Menschen nur eine untergeordnete sein sollte, so wäre es doch nicht aus-

geschlossen, dass sie unter besonderen pathologischen Verhältnissen eine sehr viel grössere werden könnte. Zum mindesten aber ist es absolut unerlässlich, dass man bei den experimentellen Beobachtungen über das Verhalten der Harnsäure im Organismus der Thiere auch das Allantoin in den Bereich der Untersuchungen zieht.

V. Verhalten der Harnsäure- und Allantoinausscheidung nach Fütterung mit Spaltungsproducten der Thymusnucleine.

Es ergab sich somit fürs nächste die Veranlassung, die Versuche über das Verhalten der Spaltungsproducte der Nucleinsäure im Organismus des Hundes noch einmal aufzunehmen und das Augenmerk dabei hauptsächlich auf die Allantoinausscheidung zu richten.

Zuvörderst überzeugte ich mich davon, dass es bei den Fütterungsversuchen mit Kalbsthymus in der That die in diesem enthaltenen Nucleine sind, welche die Allantoinausscheidung im Harn bewirken:

Versuch XII. 850 g Thymus werden fein zerhackt, mit kochendem Wasser extrahirt und solange Essigsäure zugefügt, als noch Niederschlag entsteht. Das Filtrat wird mit Natronlauge neutralisirt und auf circa 100 ccm eingeeengt, dann mit Milch dem auf S. 393 erwähnten Hunde eingegeben, der einige Zeit vorher nach Fütterung mit 500 g Kalbsthymus 0,030 ccm Harnsäure und 2,88 g Allantoin ausgeschieden hatte.

In den nächsten 24 Stunden werden 320 ccm Harn ausgeschieden, in welchem Allantoin nicht nachgewiesen werden kann.¹⁾

Versuch XIII. 850 g Kalbsthymus werden fein zerhackt und mit Wasser ausgezogen, die wässerigen Auszüge abcolirt, der Rückstand von neuem mit Wasser extrahirt und das Verfahren so lange wiederholt, bis schliesslich nur ein geringer ungelöster Rest zurückbleibt, der hauptsächlich aus Bindegewebe mit Gefässresten etc. besteht. Die wässerigen Auszüge werden mit Essigsäure gefällt. Der Niederschlag (Nuclein) wiederholt in Ammoniak gelöst und mit Salzsäure gefällt, dann mit Alkohol, Aether, darauf wieder mit Alkohol und Wasser gewaschen. Dann mit Magensaft und 0,3 procent. Salzsäure einige Stunden im Brütöfen verdaut. Der unverdaute Rückstand (nucleinhaltige Nucleinsäure) gewaschen und in Milch vertheilt demselben Hunde wie in Versuch XII in 3 Portionen um 1, 3 und 5 Uhr nachmittags eingegeben.

Bis 11 Uhr abends entleert der Hund 370 ccm Harn, aus welchem 0,65 Allantoin gewonnen werden. Nachts tritt Diarrhoe ein, und dabei geht der bis zum folgenden Tage entleerte Harn, der noch mehr Allantoin enthalten haben dürfte, verloren.

1) Nach längerem Stehen des mit Essigsäure angesäuerten Harn fand sich ein geringes Sediment, das aus oxalsaurem Kalk bestand.

Es wurden nun an denselben Hund die aus Thymus dargestellten Nucleinbasen verfüttert:

Versuch XIV. 1000 g Kalbsthymus werden fein zerhackt 3 Stunden mit Magensaft der Verdauung unterworfen. Das Filtrat giebt mit ammoniakalischer Silberlösung keine Fällung. Der ungelöste Rückstand wird mit 1 Liter 1procentiger Schwefelsäure 2 Tage im Brütöfen bei 37° C. stehen gelassen, dann noch einmal bis zum Sieden erhitzt, filtrirt und nachgewaschen. Das Filtrat mit ammoniakalischer Chlorsilberlösung ausgefällt. Der Niederschlag auf dem Filter gesammelt, gewaschen und mit Salzsäure zerlegt. Zur Reinigung mit Kupferchlorid und Schwefelwasserstoff (s. S. 386) wiederholt behandelt, bis eine klare und fast farblose Lösung filtrirt. Sie wird auf ein kleines Volumen eingeeengt, worauf nach einigem Stehen Krystalldrüsen von salzsaurem Adenin sich ausscheiden. Die Mutterlauge schwärzt sich wieder etwas beim Eindampfen, es tritt aber auch nach wiederholtem Eindampfen keine Dissociation der salzsauren Verbindung ein.¹⁾

Vom 16. bis zum 18. Januar war der Hund mit je 200 g Fleisch, 200 Milch und 150 Brot gefüttert worden. Die Harnsäureausscheidung betrug dabei durchschnittlich in 24 Stunden 0,0172; Allantoin war nicht nachweisbar.

Am 18. Januar erhält das Thier die aus der ersten Krystallisation erhaltene Base. Das Gewicht der salzsauren Verbindung beträgt 2,58 g (entsprechend 1,93 reinem Adenin). Die Substanz wird in 250 ccm heissem Wasser gelöst, mit Natronlauge schwach alkalisch gemacht und 500 ccm Milch beigemischt, die der Hund im Laufe des Tages freiwillig säuft. Es tritt kein Erbrechen ein.

Bis zum 19. Januar entleert der Hund 1 Liter Urin von schwach alkalischer Reaction. Davon werden 250 ccm auf 100 eingeeengt und nach Ludwig-Salkowski auf Harnsäure verarbeitet. Gefunden 0,0032, also auf die 24stündige Harnmenge berechnet 0,0128 Harnsäure. Der Silberniederschlag war sehr reichlich und enthielt unverändertes Adenin. Der Rest des Harnes wird mit Essigsäure angesäuert, auf ca. 30 ccm eingeeengt und in der Kälte stehen gelassen. Es scheidet sich kein Allantoin aus.

Am 20. Januar 200 ccm Harn; spärlicher Silberniederschlag, 0,0120 Harnsäure; kein Allantoin.

Der Hund erhält nun die von dem auskrystallisirten salzsauren Adenin abgeessene Mutterlauge. Gewicht des zur Trockne eingedampften Rückstandes 4,32 g (entsprechend 3,23 Adenin unrein).

Bis zum 21. Januar 450 ccm Harn mit 0,0198 Harnsäure. Kein Allantoin.

Diese Versuche ergaben also sowohl in Bezug auf die Harnsäure wie auf das Allantoin ein ähnliches Resultat, wie es die Fütterung

1) Nach Kossel liefert die Thymusnucleinsäure bei der Spaltung keine andere Purinbase ausser Adenin.

mit der Salmonnucleinsäure und dem aus desselben dargestellten Adenin in Bezug auf die Harnsäure allein ergeben hatte.

Das negative Resultat der Adeninfütterung gab Veranlassung, die — von vornherein zwar nicht sehr wahrscheinliche — Möglichkeit zu prüfen, ob die Muttersubstanz des Allantoins, bez. der Harnsäure nicht gar in einem anderen Spaltungsproducte der Nucleinsäure zu suchen wäre.

Es wurden daher an denselben Hund an verschiedenen Tagen nach einander verfüttert:

1. die durch Behandlung des Thymus mit Magensaft gewonnene Lösung,

2. der bei der Abspaltung der Basen durch die verdünnte Schwefelsäure ungelöst gebliebene Rückstand, der beim Kochen mit stärkeren Säuren keine durch Silber fällbaren Basen mehr lieferte,

3. das Filtrat von der Silberfällung, nachdem dasselbe durch Ansäuern mit Essigsäure von dem überschüssigen Chlorsilber befreit und zur Verjagung des essigsauren Ammons wiederholt mit Wasser eingedampft war.

Alle diese Versuche ergaben ebenfalls negative Resultate: weder konnte eine Zunahme der Harnsäureausscheidung, noch das Auftreten von Allantoin beobachtet werden.

Die folgenden beiden Versuche wurden nun angestellt, um zu prüfen, ob nicht etwa das Schicksal der in den Nucleinen enthaltenen Puringruppe, bez. der Uebergang der aus derselben entstehenden Harnsäure oder des Allantoins in den Harn beeinflusst wird durch die Gegenwart des nach Abspaltung jener Gruppe zurückbleibenden Restes („Thyminsäure“ Kossel's), bez. durch die Stoffwechselproducte dieses Restes. Zu diesem Zwecke wurde die Nucleinsäure durch Kochen mit Säuren gespalten, und die vereinigten Spaltungsproducte gleichzeitig verfüttert. Die Versuche ergaben leider kein ganz klares Resultat, mögen aber der Vollständigkeit halber hier Erwähnung finden:

Versuch XV. Aus 900 g Kalbsthymus wird die Nucleinsäure in gleicher Weise, wie in Versuch XIII isolirt, darauf mit 1 Liter einprocentiger Phosphorsäure 15 Minuten gekocht und filtrirt (der geringe ungelöst gebliebene Rückstand giebt beim Kochen mit Salzsäure keine mit Silber fällbaren Basen mehr ab). Das Filtrat wird mit 10 g Calciumcarbonat versetzt und auf 400 ccm eingeeengt.

Von der mit Natriumcarbonat annähernd neutralisirten Masse wird am 5. März die Hälfte in mehreren Portionen mit Milch gemischt im Laufe des Tages an denselben Hund verfüttert. Abends 8 Uhr, 2 Stunden nach der letzten Fütterung, wird eine geringe Menge erbrochen.

Bis zum 6. März 800 ccm Harn, von welchem 100 ccm 0,002 Harnsäure liefern, also auf die Tagesmenge 0,016 Harnsäure.

Am 8. März wird der Rest der Masse in gleicher Weise wie die erste Hälfte eingegeben. Abends um 10 Uhr erbricht der Hund wieder, wobei der im Laufe des Tages entleerte Harn verunreinigt wird.

Bis zum folgenden Morgen werden noch 500 ccm Harn entleert, die mit den 700 ccm vom 6. März vereinigt und auf Allantoin verarbeitet werden. Gefunden 0,16 Allantoin.

Versuch XVI. 750 g Thymus werden fein zerhackt und mit 1 Liter einprocentiger Phosphorsäure auf dem Wasserbade 6 Stunden lang digerirt. Das Filtrat mit 10 g Calciumcarbonat versetzt und mit $\frac{1}{2}$ Liter Milch unter Zusatz von Ammoniak noch eine Zeitlang auf dem Wasserbade erwärmt. Am 18. März wird die Masse abends dem Hunde eingegeben. Nachts tritt diarrhoische Stuhlentleerung ein, wobei auch Harn verloren ging. Im Laufe des 19. März werden noch 300 ccm Harn gewonnen, in welchem 0,185 Allantoin nachweisbar ist.

Obgleich also trotz der grossen Mengen von phosphorsaurem Kalk Erbrechen und Diarrhoe bei diesen Versuchen nicht verhindert werden konnten, und somit die Resorption der verfütterten Producte keine vollständige war, und obgleich auch nicht die ganze Harnmenge verarbeitet wurde, liess sich doch Allantoin im Harne nachweisen. Andererseits aber war die Menge desselben in Anbetracht der grossen Quantitäten des verwendeten Thymusgewebes im Vergleich mit den Mengen, die nach Fütterung mit frischem Kalbsthymus gefunden wurden, doch nur als sehr gering zu bezeichnen, und es kann fraglich erscheinen, ob diese Mengen nicht auf Reste ungespaltener Nucleinsäure zurückgeführt werden müssen, die vielleicht bei der Behandlung mit Phosphorsäure in Lösung gegangen waren.

Immerhin blieb nach den vorhergehenden Versuchen die auffallende Erscheinung, dass die in der Nucleinsäure des Thymus enthaltene Atomgruppe des Purinkernes im Organismus des Hundes nur dann in Form von Harnsäure oder Allantoin im Harne erschien, wenn sie in organischer Verbindung mit dem Nucleinsäurerest eingeführt wurde, nicht aber, wenn die Spaltungsproducte der Nucleinsäure einzeln verfüttert wurden.

VI. Verhalten der Harnsäure- und Allantoin- ausscheidung nach Fütterung mit Hypoxanthin beim Hunde und beim Menschen.

Es erschien nun wünschenswerth, auch das Verhalten anderer Purinbasen im Organismus der Säugethiere zu prüfen, insbesondere

derjenigen, die wie die Harnsäure nur 4 Atome N im Molekül enthalten. Ich wählte zunächst das Hypoxanthin, welches, wie oben erwähnt, in den Versuchen von v. Mach im Organismus der Vögel auch nach der Leberexstirpation noch in Harnsäure übergeführt wurde. Am Hunde hat Baginsky¹⁾ einen Fütterungsversuch mit Hypoxanthin ausgeführt, wobei er constatirte, dass die Substanz im Organismus vollständig zersetzt wurde. Nach Eingabe von 4,281 g im Laufe von 3 Tagen enthielt der Harn sogar weniger Hypoxanthin als an den vorhergehenden Tagen. Ueber das Verhalten der Harnsäureausscheidung macht Baginsky keine genaueren Angaben; er erwähnt nur die Anwesenheit derselben im Harne nach der Hypoxanthinfütterung. Sicher handelte es sich aber auch nicht um annähernd so grosse Mengen, wie in den Versuchen von v. Mach, so dass eine Verschiedenheit in dem Verhalten der beiden Thierklassen unzweifelhaft vorlag. Man hat nun allerdings geglaubt, diese Verschiedenheit ohne weiteres auf die besondere Rolle zurückführen zu dürfen, welche der Harnsäure als hauptsächlichstem Endprodukt des Stickstoffumsatzes im Organismus der Vögel zukommt. Da indessen nach der Leberexstirpation die dem Vogelorganismus eigenthümliche synthetische Harnsäurebildung aufgehört hat, und der entlebte Vogel sich somit in Bezug auf die Harnsäureausscheidung nicht viel anders verhält als ein Säugethier, so schien mir das Verhalten des Hypoxanthins im Organismus des letzteren noch einer besonderen Prüfung werth.

Zu diesem Zwecke stellte mir Herr Prof. Schmiedeberg ein Präparat von reinem Hypoxanthin in grösseren Mengen zur Verfügung, welches nach dem Verfahren von Emil Fischer²⁾ von der Firma Boehringer & Söhne in Mannheim dargestellt war.

Versuch XVII. Der in Versuch VIII erwähnte Hund, der bei der gewöhnlichen Fütterung 0,024 Harnsäure in 24 Stunden entleert hatte, erhält am 11. Mai von 9 Uhr vormittags bis 7 Uhr nachmittags zweistündlich 0,5 g Hypoxanthin in je 50 ccm einer 1/2procentigen Salzsäurelösung gelöst mittels Schlundsonde. Am 12. Mai vormittags noch 3 Gaben von je 0,5 Hypoxanthin in gleicher Weise. Der Hund verträgt die Substanz sehr gut. Er bleibt munter, frisst sein Futter wie gewöhnlich und erbricht nicht; erst am 13. Mai nachmittags erfolgt die erste Kothenleerung, die von fester Consistenz und normalem Aussehen ist. Im ganzen wurden verfüttert 4,5 g Hypoxanthin.

1) Baginsky, Ueber das Vorkommen von Xanthin, Guanin und Hypoxanthin. Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. VIII, S. 397, 1883/84.

2) Emil Fischer, Synthese des Hypoxanthins, Xanthins, Adenins und Guanins. Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch. Bd. XXX, S. 2226, 1897.

Vom 11. bis 13. Mai vormittags entleert der Hund 850 ccm Harn, in welchem 0,263 Harnsäure und 4,02 g Allantoin nachgewiesen werden. Von unverändertem Hypoxanthin waren nur Spuren nachweisbar.

Es sind also bei dem Hunde etwa 4 Proc. von dem einverleibten Hypoxanthin in Form von Harnsäure und mindestens 77 Proc.¹⁾ in Form von Allantoin zur Ausscheidung gelangt. Berücksichtigt man noch die unvollkommene Methode der Allantoinbestimmung, so ergibt sich, dass fast die gesammte Menge des eingegebenen Hypoxanthins in Allantoin, bez. Harnsäure übergeführt war.

Da der Hund absolut keine Störungen seines Wohlbefindens nach der Hypoxanthin-Fütterung gezeigt hatte, so glaubte ich es wagen zu dürfen, auch einem Menschen grössere Hypoxanthinmengen einzugeben.

Versuch XVIII. Derselbe Mann, der bereits zu den früheren Untersuchungen gedient hatte, wird zunächst — um einen möglichst grossen Ausschlag bei dem Versuch zu erzielen — auf eine Diät gesetzt, die geeignet ist, die Harnsäureausscheidung soweit als möglich herabzudrücken. Er erhält täglich: 750 ccm Milch, 2 Eier, 50 g Käse, 100 g Butter, 400 g Brot und 1000 g Reisbrei, sowie $\frac{1}{4}$ Liter Wein. Dabei sinkt die Harnsäureausscheidung nach 3 Tagen bis auf etwa 0,2 pro Tag. Der Urin ist von normalem Aussehen, etwas concentrirt, enthält aber kein Sediment.

Am 25. Mai erhält der Mann 3,0 g Hypoxanthin in 200 ccm Wasser mit 1,5 g Salzsäure gelöst, zweistündlich 1 Esslöffel.

Gegen Abend enthält der frisch entleerte Harn zahlreiche Harnsäurekrystalle.

Am nächsten Morgen findet sich im Uringlas ein sehr reichliches krystallinisches Sediment von freier Harnsäure, welches abfiltrirt, in Kalilauge gelöst und mit Salzsäure ausgefällt, 1,060 g reine Harnsäure liefert. Im Filtrat finden sich ausserdem bei der Verarbeitung nach Ludwig-Salkowski noch 0,345 g Harnsäure.

Am folgenden Tage enthält der Urin immer noch krystallinisch ausgeschiedene freie Harnsäure, aber in geringerer Menge. Es werden gefunden: im Sediment 0,218, im Harn gelöst noch 0,408. Die zuletzt entleerten Harnportionen sind frei von Sediment.

Der gesammte Verlauf der Harnsäureausscheidung ist aus folgender Tabelle ersichtlich, in welcher zum Vergleich auch noch das Ergebniss eines bei demselben Patienten später unter ähnlichen Bedingungen angestellten Versuches mit Coffein Platz finden mag:

¹⁾ 100 Theile Harnsäure entsprechen 80 Theilen Hypoxanthin, 100 Theile Allantoin 86 Theilen Hypoxanthin.

Tabelle III.

Datum	Harn- menge in cem	Spec. Gewicht	Harnsäure in 24Stunden	Nahrung
24. Mai	980	1028	0,397	750 cem Milch, 2 Eier, 50 g Käse, 100 g Butter, 400 g Brot, 1000 g Reisbrei, $\frac{1}{4}$ Liter Wein
25. Mai	1200	1024	0,192	desgl.
26. Mai	1030	1028	1,405	desgl. + 3,0 Hypoxanthin
27. Mai	930	1026	0,626	desgl.
28. Mai	850	1031	0,468	desgl.
15. Juni	520	1035	0,234	desgl. + 2,0 Coffein
16. Juni	2130	1014	0,227	desgl.
17. Juni	750	1023	0,248	desgl.

Nach den Ergebnissen dieses Versuches kann es keinem Zweifel unterliegen, dass das Hypoxanthin im Organismus des Menschen zum grossen Theil direct in Harnsäure umgewandelt wird.

VII. Fütterungsversuche mit synthetisch dargestelltem Adenin.

Fütterungsversuche mit Adenin habe ich am Menschen nicht anstellen dürfen, da, wie die Versuche an Hunden ergeben haben, das Adenin keineswegs für den Organismus indifferent ist.

Dagegen habe ich an Hunden ausser den sub IV, V und XIV erwähnten noch einige weitere Fütterungsversuche mit einem Adeninpräparat angestellt, welches ebenfalls nach dem Verfahren von Emil Fischer von der oben genannten Firma synthetisch dargestellt war.

Versuch XIX. Zunächst erhielt der Hund, der zu den in Capitel V beschriebenen Versuchen gedient hatte, am 28. April zweistündlich 0,5 g Adenin in je 100 cem warmem Wasser gelöst mit Zusatz von je 100 cem Milch, die er freiwillig säuft. Die ersten 4 Portionen werden gut vertragen, die 5. erbrochen.

Bis zum 29. April 800 cem Harn von schwach alkalischer Reaction. 100 cem ergeben nur 1—2 mg Harnsäure neben etwas unverändertem Adenin. 650 cem eingeengt liefern nach mehrwöchentlichem Stehen 0,07 g Allantoin.

Vom nächsten Tage ab nimmt der Hund keine Nahrung mehr zu sich.

Am 30. April 150 cem Harn, der etwas Eiweiss enthält.

Am 1. Mai werden noch 3 Gaben von je 0,5 g Adenin mit je 100 cem Wasser und Milch mittels Schlundsonde verabfolgt.

Bis zum 2. Mai 250 cem Harn, schwach sauer, enthält Eiweiss, im Sediment Nierenepithelien, Leukocyten, einzelne Cylinder, ausserdem eigen-

thümliche gelbe Körner, die bisweilen zu cylinderförmigen Conglomeraten angeordnet sind und Murexidreaction geben (s. unten S. 410). Die Menge der im Sediment enthaltenen Harnsäure beträgt aber nur wenige Milligramme. Bei der Ausfällung des Harnes mit Silber werden nur Spuren von Harnsäure gefunden. Allantoin überhaupt nicht nachweisbar.

Der Hund wird in den nächsten Tagen sehr elend. Er frisst einmal etwas Fleisch, erbricht es aber bald wieder, dann nimmt er gar keine feste Nahrung mehr zu sich, erbricht aber selbst das Wasser, sowie häufig zähe schleimige Massen. Der spärliche Urin kann nicht mehr vollständig aufgefangen werden; er ist am 4. Mai nicht mehr eiweisshaltig.

Am 7. Mai wird das moribunde Thier durch Chloroform getödtet.

Bei der Section findet sich der Magen nicht wesentlich afficirt, dagegen die Duodenalschleimhaut etwa vor der Einmündungsstelle des Ductus choledochus an stark geschwellt, hyperämisch, mit zähem Schleim bedeckt, nach dessen Entfernung einzelne oberflächliche Substanzverluste in der Schleimhaut sichtbar werden. Aehnliche Veränderungen im Jejunum, die weiter abwärts an Intensität abnehmen und im Ileum aufhören.

An den Nieren die gleichen Veränderungen, wie in Versuch IV und V. Dieselben sollen weiter unten eingehender beschrieben werden.

In der Blase ca. 100 cem Harn von saurer Reaction mit einem spärlichen Sediment von sandkörnerähnlichen Sphärolithen, welche Murexidreaction geben. Die Gesamtmenge der Harnsäure beträgt aber nur 2—3 mg.

Die heftigen Magendarmerscheinungen, die in diesem Versuche beobachtet wurden, liessen an die Möglichkeit denken, dass vielleicht die freie Base besonders schlecht vertragen würde. Es wurde daher der nächste Versuch so angestellt, dass das Adenin in verdünnter Salzsäure gelöst, genau in der gleichen Weise verabfolgt wurde, wie das Hypoxanthin in Versuch XVII. Ausserdem war dieser Versuch noch deshalb bemerkenswerth, weil es sich um ein Thier handelte, welches bei gleicher Fütterung wie die übrigen Hunde einen höheren Harnsäuregehalt im Harne zeigte.

Versuch XX. Ein 12 kg schwerer Hund, der noch zu keinem anderen Fütterungsversuche verwendet war und bei Fütterung mit 250 g Fleisch, 150 g Brot und 200 cem Milch am 6. und 7. Juni 0,096, bezw. 0,117 Harnsäure ausgeschieden hatte, erhält am 8. Juni von 8 Uhr vormittags bis 6 Uhr nachmittags alle 2 Stunden 0,5 g Adenin in je 50 cem $\frac{1}{2}$ procentiger Salzsäure gelöst mittels Schlundsonde, im ganzen also 3,0 Adenin. Das Thier verträgt die Substanz anfangs scheinbar ganz gut. Es frisst um 8 Uhr sein Futter, erbricht dasselbe aber nach einiger Zeit. Die vollständig aufgefangene 24stündige Harnmenge beträgt bis zum 9. Juni 520 cem. In 100 cem nur etwa 1 mg Harnsäure. In 400 cem Allantoin nicht nachweisbar.

In den nächsten Tagen erbricht auch dieses Thier fortwährend und wird dabei sehr elend.

Am 13. Juni erhält es mittags 12 Uhr 0,5 g Adenin in 50 ccm schwach alkalischer Natronlösung subcutan injicirt. Wenige Minuten später fällt die sehr erregte Herzaction auf. Der Herzstoss ist sehr verstärkt und führt zu solchen Erschütterungen des ganzen Käfigs, dass man die lauten Schläge im Zimmer hören kann. Puls 84 in der Minute, aber sehr gross und hüpfend.

Nachmittags 6 Uhr werden abermals 0,5 g Adenin in gleicher Weise subcutan injicirt.

Im Laufe der Nacht stirbt der Hund, ohne dass es gelungen wäre, nicht verunreinigten Harn zu gewinnen.

Im Darm, sowie in den Nieren die gleichen Veränderungen, wie in dem vorigen Versuche, nur noch intensivere Entzündungserscheinungen in den Nieren.

Da es sich bei den bisher erwähnten Versuchen gezeigt hatte, dass die ersten Gaben des Adenins gut vertragen wurden und erst bei den späteren Erbrechen eintrat, so wurde der folgende Versuch in der Weise angestellt, dass die Adeninfütterung auf einen längeren Zeitraum vertheilt wurde.

Versuch XXI. Der Hund, welcher zu Versuch X (S. 399) gedient hatte, erhält am 28. Juni vormittags 10 Uhr und abends 6 Uhr je 0,5 Adenin mit 100 ccm Wasser und 100 ccm Milch gelöst. Er bleibt munter und frisst abends sein Futter, erbricht auch nicht im Laufe der Nacht.

Bis zum folgenden Tage 530 ccm Harn, eiweissfrei.

Am 29. Juni nachmittags Erbrechen; im Erbrochenen noch Fleischreste vom vorhergehenden Tage. Abends 7 Uhr noch einmal 0,5 g Adenin in gleicher Lösung wie oben. Frisst um 9 Uhr Fleisch. Im Laufe der Nacht Erbrechen.

Am 30. Juni 400 ccm Harn, enthält etwas Eiweiss. Geringes Sediment von gelblichen Körnchen, die Murexidprobe geben. Um 11 Uhr vormittags und um 7 Uhr nachmittags je 0,5 g Adenin, wie oben. Um 1 Uhr Erbrechen.

Am 1. Juli 390 ccm Harn. Um 12 Uhr 0,5 g Adenin wie oben. Im Laufe des Nachmittags Erbrechen. Um 6 und um 7 Uhr nachmittags je 0,25 g Adenin in je 100 ccm Wasser gelöst. Um 7½ Uhr Erbrechen.

Am 2. Juli 420 ccm Harn, sp. G. 1016, wenig Eiweiss.

Der vom 28. Juni bis zum 2. Juli entleerte Harn (1740 ccm) werden auf Allantoin mit negativem Resultate verarbeitet.

Am 2. Juli wird der Hund durch Verbluten getödtet.

Im Duodenum und Jejunum intensiver Katarrh, Magenschleimhaut besonders am Fundus stark geröthet. In den Nieren die gleichen Veränderungen, wie in den übrigen Fällen, nur in etwas geringerer Intensität. —

Nachträglich wurden auch die aufbewahrten Alkoholextrakte der in Versuch IV und V nach der Adeninfütterung entleerten Harne auf Allantoin untersucht, ohne dass es gelungen wäre, diese Substanz nachzuweisen.

Ueerblicken wir die Resultate dieser Versuche, so ist zunächst festzustellen, dass ebensowenig wie eine Zunahme der Harnsäure-Ausscheidung auch ein Auftreten von Allantoin nach der Einverleibung von Adenin beobachtet werden konnte. Die geringe Menge, die in Versuch XIX am ersten Tag der Adeninfütterung gefunden wurde, kommt nicht wesentlich in Betracht im Vergleich zu den Mengen, wie sie z. B. nach der Hypoxanthinfütterung ausgeschieden wurden. Sie konnte sehr wohl noch auf die vorausgegangene Fleischfütterung bezogen werden.

Bemerkenswerth ist es ferner, dass, im Gegensatz zu dem Hypoxanthin, welches sowohl vom Menschen wie vom Hunde ohne alle Störungen vertragen wurde, das Adenin intensive Krankheitserrscheinungen bewirkte, die mehrfach sogar zum Tode der Thiere geführt haben.

Abgesehen von der Einwirkung auf den Circulationsapparat, wie sie besonders nach der subcutanen Injection des Adenins in Versuch XX hervorgetreten war, betrafen diese Erscheinungen zunächst die Verdauungsorgane und bestanden hauptsächlich in einer intensiven Entzündung der Darmschleimhaut, die im Duodenum am stärksten ausgesprochen war und hier selbst zu oberflächlichen Substanzverlusten geführt hatte. Die Magenschleimhaut war sehr viel weniger, in einzelnen Fällen gar nicht afficirt. Die Folge dieser Erkrankung des Duodenums war das andauernde Erbrechen. Auffallend war es, dass letzteres in der Regel nicht nach den ersten Gaben des Adenins, sondern meist erst nach einiger Zeit begann. Dieser Umstand, sowie die Localisation der anatomischen Veränderungen im Darne liess an die Möglichkeit denken, dass vielleicht nicht eine locale Wirkung der eingeführten Substanz, sondern eine Ausscheidung von Stoffwechselproducten derselben durch die Darmschleimhaut als die Ursache der Darmaffection anzusehen war. Doch wäre diese Möglichkeit noch durch Versuche mit subcutaner Injection von Adenin zu prüfen.

Ausser diesen Erscheinungen war es besonders die Affection der Nieren, welche die Aufmerksamkeit in Anspruch nahm. Diese Affection äusserte sich zunächst schon darin, dass wiederholt nach der Adeninfütterung Albuminurie beobachtet wurde. Dieselbe war allerdings in der Regel nicht erheblich und vorübergehend. Doch wurden abgestossene Nierenepithelien, Leukocyten, sowie hyaline, gekörnte und zellige Cylinder vereinzelt auch in solchen Fällen gefunden, in welchen die Albuminurie kaum nachweisbar war. Diese Cylinder schlossen häufig auch die noch genauer zu beschreibenden gelben

Kugeln und Körner ein, die noch bis zu acht Tagen nach der Adeninfütterung im Harnsediment aufgefunden wurden. Ganz besonders bemerkenswerth aber waren die anatomischen Veränderungen der Nieren, die in allen Fällen nach der Adeninfütterung in gleicher Weise, nur in verschiedener Intensität, beobachtet werden konnten, und die im folgenden Abschnitte genauer beschrieben werden sollen.

VIII. Harnsäureablagerungen in den Nieren nach Fütterung mit Adenin.

Die makroskopisch auf den ersten Blick ziemlich normal aussehende Oberfläche der Nieren der mit Adenin gefütterten Hunde zeigte sich bei näherer Betrachtung übersät mit feinen grauweissen Pünktchen. Auf der Schnittfläche (Fig. 1 Taf. I) fand sich die ganze Rinde mehr oder weniger stark durchsetzt mit ähnlichen punktförmigen Einlagerungen, die besonders an der Grenzzone zwischen Rinde und Mark dicht gedrängt zusammenlagen und dieser Gegend im ganzen eine hellere Färbung verliehen. In der Marksubstanz fanden sich neben vereinzelt punktförmigen Einlagerungen auch noch zahlreiche, dem Verlauf der Sammelröhrchen entsprechende, nach den Papillen convergirende, grauweisse Streifen.

Bei der mikroskopischen Untersuchung erscheinen diese Einlagerungen als gelbliche oder bräunliche, die grösseren auch als vollkommen undurchsichtige Kugeln (Sphärolithen), die mehr oder weniger deutlich eine krystallinische Structur, eine radiäre Streifung oder concentrische Schichtung erkennen lassen. Einzelne von diesen Kugeln sind scharf begrenzt und erinnern in ihrem Aussehen an Dünnschliffe mancher Harnsteine, (Fig. 7 a a), andere lassen an den Rändern ihrer Zusammensetzung aus strahlig angeordneten Nadeln deutlich hervortreten (Fig. 12). Im auffallenden Licht erscheinen sie hell glänzend. Ihre Grösse schwankt von dem 6—8fachen Durchmesser der Nierenpithelien bis zu dem kleinsten kaum sichtbaren Körnchen. Sie lösen sich langsam und unvollständig in Säuren, aber sehr leicht in verdünnter Kalilauge. Sie sind löslich auch in Lysidin- und Piperazinslösungen.

Auf Schnitten durch die in absolutem Alkohol gehärteten und in Celloidin eingebetteten Nieren konnte nach Färbung mit Hämatoxylin und Einlegen in Canadabalsam die Anordnung der Ablagerungen sehr genau verfolgt werden:

Niemals finden sie sich innerhalb der Glomeruli (Fig. 2), dagegen häufig schon in der nächsten Nachbarschaft derselben in den gewundenen Harnkanälchen, ferner auch in den Henle'schen

Schleifen. Die Glomeruli selber scheinen auch sonst nur wenig verändert zu sein. Nur in einzelnen Präparaten erscheint die Kapsel etwas erweitert und enthält gelegentlich geronnene Massen oder vereinzelte abgestossene Glomerulusepithelien.

In den Harnkanälchen der Rinde liegen die Ablagerungen zum Theil innerhalb des Lumens (Fig. 4 g, h, i), welches die grösseren Kugeln so vollständig ausfüllen können, dass die Epithelien platt gedrückt erscheinen (Fig. 4 f). Infolge der dadurch offenbar bedingten Undurchgängigkeit einzelner Harnkanälchen erscheinen andere Durchschnitte derselben mehr oder weniger stark erweitert (Fig. 4 b). Dazwischen finden sich aber viele Harnkanälchen, die vollkommen normal aussehen und intactes Epithel zeigen (Fig. 4 a).

Häufig sieht man die Ablagerungen in den Harnkanälchen der Rinde auch wandständig, wo sie zwischen den Epithelien oder innerhalb derselben zu liegen scheinen. Bisweilen macht es den Eindruck, als ob sie in dem basalen Theil der Zelle oder auch unmittelbar an der Membrana propria der Kanälchen entstanden sind und die Epithelien in das Lumen der Kanälchen hervorgestülpt haben (Fig. 4 c, d, e; Fig. 6 a). Dabei scheint es schliesslich zu einer Loslösung von kleinen Zelleonglomeraten (Fig. 6 b) zu kommen, welche die allmählich wachsenden und weiter geschwemmten Sphärolithen ringsum einschliessen. Infolge dessen findet man die im Lumen von Harnkanälchen liegenden Kugeln vielfach von plattgedrückten Epithelzellen umringt, die sie von einem anderen Abschnitt der Harnkanälchen mitgebracht zu haben scheinen, so dass an der Stelle, an der sie sich gerade befinden, noch ausserdem ein intactes oder nur etwas platt gedrücktes Epithel an der Wandung des Harnkanälchens erkennbar ist (wie in Fig. 7).

Neben den sphärischen Gebilden finden sich an einzelnen Stellen auch nadelförmige, zu Drusen und Garben angeordnete Krystalle und kleine unregelmässig geformte Körnchen verschiedener Grösse, die die gleiche Lichtbrechung zeigen, wie die grossen Sphärolithen. Die Nadeln scheinen zum Theil intra-, zum Theil extracellulär zu liegen. Wo solche gefunden werden, da erscheint das Epithel häufig unregelmässig angeordnet, zum Theil abgelöst, verschoben, einzelne Zellen gequollen, mit undeutlichem Kern, an einzelnen Stellen auch in Wucherung begriffen (Fig. 5).

An vielen Stellen finden sich zwischen den Nierenepithelien, die in der Nähe der Ablagerungen gelegen sind, auch einzelne Rundzellen (Fig. 4 e), die an anderen Stellen die ganze Wandung der Harnkanälchen und ihre Umgebung durchsetzen (Fig. 10) und so zu

grösseren Zellanhäufungen führen, die kaum noch die ursprüngliche Anordnung in und an den Harnkanälchen erkennen lassen (Fig. 11). So entstehen schliesslich auch grössere herdförmige Anhäufungen von Rundzellen im Gewebe, in denen von der ursprünglichen Structur der Niere nichts mehr zu erkennen ist (Fig. 12). Im Centrum dieser Herde findet man fast überall einen oder mehrere Sphärolithen, an denen meistens das krystallinische Gefüge besonders deutlich hervortritt, und die scheinbar interstitiell gelegen sind, obwohl sie ursprünglich innerhalb von Harnkanälchen entstanden waren. Auch sonst erscheint das interstitielle Gewebe der Niere etwas reich an zelligen Elementen. Am reichlichsten fanden sich diese Zellanhäufungen in Versuch XX, in welchem namentlich die Nierenrinde das ausgeprägte Bild einer acuten Nephritis darbot ¹⁾.

In den vielfach sehr stark erweiterten Sammelröhrchen der Pyramiden finden sich grössere Anhäufungen von Sphärolithen verschiedener Grösse, die häufig in langen Reihen angeordnet sind (Fig. 3) und nicht selten das Lumen vollständig obturiren. Dieselben sind zum Theil von epithelähnlichen Zellen umgeben, die aus den oberen Abschnitten der Harnkanälchen zu stammen scheinen (Fig. 7). Häufig finden sich auch grössere und kleinere Sphärolithen in Cylindern eingeschlossen, die aus feinkörnigen oder hyalinen Massen oder aus zelligen Elementen (Fig. 8) gebildet sind. Die Epithelien der Kanälchen erscheinen hier meist erhalten, nur entsprechend der Erweiterung der Harnkanälchen mehr oder weniger abgeplattet. Nirgends trifft man Bilder, die an eine Entstehung von Sphärolithen in den Epithelien der Sammelröhrchen denken liessen. Vielmehr scheinen sämtliche in der Pyramide gefundenen Ablagerungen aus der Nierenrinde zu stammen. An einzelnen Stellen finden sich, in den Harnkanälchen hyaline Tropfen und unregelmässig geformte Schollen („Hyalin“ v. Recklinghausen's?), die an ungefärbten Präparaten hell, stark lichtbrechend, glänzend erscheinen, und deren Umgrenzung bei der Färbung mit Hämatoxylin einen intensiv blauen Farbenton annimmt. Mitunter schliessen auch diese Schollen einzelne gelbe Körner ein, im allgemeinen aber scheinen sie mit den Ablagerungen der Sphärolithen in keiner directen Beziehung zu stehen (Fig. 9).

An Schnitten, die in 5 procentige Lysidinlösung eingelegt waren, verschwinden die Sphärolithen bei genügend langer Einwirkung meist spurlos. Da, wo dieselben von Rundzellen umringt gelegen waren, sieht man nur Lücken zwischen den Zellen, in denen selbst nach

¹⁾ Irgend welche Mikroorganismen liessen sich durch Färbung mit Löffler'schem Methylenblau in den Nieren nicht nachweisen.

Doppelfärbung mit Hämatoxylin und Eosin nichts mehr nachweisbar ist. Da, wo die Ablagerungen wandständig zwischen den Epithelien der Harnkanälchen oder im Lumen derselben von Epithelien umgeben gelegen waren, hat man häufig den Eindruck, als ob sich die Lücken innerhalb des Zellprotoplasmas befänden. Bei weniger intensiver Einwirkung der Lysidinlösung findet man an Stelle der Sphärolithen feinkörnige, gelbbraunliche, ziemlich durchsichtige Massen, die hauptsächlich aus Farbstoffkörnchen zu bestehen scheinen, welche in den Krystallconglomeraten eingeschlossen waren.¹⁾

Um über die Natur der Ablagerungen ein Urtheil zu gewinnen, wurde zunächst fein zerhacktes Nierengewebe mit kaltem Wasser durch ein weitmaschiges Tuch geschlemmt. Es fand sich dann im Bodensatze der Colatur eine gewisse Menge freier Sphärolithen, die durch wiederholtes Schlemmen mit kaltem Wasser einigermaßen isolirt werden konnten. Durch Kochen mit überschüssigem Ammoniak gelöst, und nach dem Erkalten mit ammoniakalischer Silberlösung ausgefällt, lieferten sie nach Zerlegung des Niederschlages mit heisser verdünnter Salzsäure und dem Einengen des Filtrates einige Krystalle, welche deutliche Murexidreaction gaben und die charakteristischen Formen der Harnsäure erkennen liessen.

Die Mengen der in den Nieren abgelagerten Harnsäure genauer zu bestimmen, ist mir bis jetzt nicht möglich gewesen, da sich verschiedene Methoden, die ich zu diesem Zwecke versuchte, nicht bewährt haben. Ich will nur erwähnen, dass ich bei der Verarbeitung von 4 Nieren im Gesamtgewicht von 140 g ca. 0,2 g mit ammoniakalischer Silberlösung fällbarer Purinderivate erhielt, aus denen ich 0,034 g Harnsäure rein darstellen konnte. Daneben waren noch xanthin- und guaninähnliche Basen vorhanden, die nach dem Abdampfen mit Salpetersäure einen gelben Rückstand hinterliessen, der sich erst nach dem Erwärmen mit Kalilauge blauviolett färbte. Zur

1) Man hat in neuerer Zeit vielfach auf die bei der Auflösung von Concretionen zurückbleibenden „Gerüste“ oder „Schatten“ einen besonderen Werth gelegt. Da es sich aber im Harne und in den Nieren stets nur um Krystallisationen aus unreinen Lösungen handeln kann, so ist es ja nicht anders möglich, als dass fremdartige Beimengungen von den Krystallen eingeschlossen werden, wie dieses sich ja schon allein durch die Färbung der Krystalle verräth. Dass da, wo die Krystallisation bei Gegenwart von Eiweiss erfolgt, auch Eiweiss Spuren in den Concretionen gefunden werden müssen, erscheint ebenfalls selbstverständlich. Wendet man Lösungsmittel an, durch welche die Einschlüsse der Krystalle nicht aufgelöst werden, so mögen diese als „Schatten“ zurückbleiben. Dass aber diesen Schatten eine besondere Bedeutung bei dem Zustandekommen der Concretionen beizulegen ist, erscheint dadurch in keiner Weise bewiesen.

näheren Charakterisirung der Substanzen reichte einstweilen die Menge derselben nicht aus. Da Xanthin und Guanin auch in der normalen Niere vorkommen (Kossel), so vermag ich vorläufig noch nicht zu entscheiden, ob eine Vermehrung dieser Basen unter dem Einflusse der Adeninfütterung zustandegekommen war, oder ob irgend welche besonderen Stoffwechselproducte des Adenins¹⁾ noch dabei waren. Uebrigens war bei der in Rede stehenden Untersuchung die Ausbeute an diesen Substanzen wie an Harnsäure keine vollständige gewesen, da die Verarbeitung zunächst nur zum Zwecke einer qualitativen Prüfung vorgenommen war.

Jedenfalls ist es sicher, dass die in der Niere abgelagerten Sphärolithen Harnsäure enthielten. Ob diese Sphärolithen aus reiner Harnsäure oder aus irgend einer Verbindung derselben²⁾ bestanden, muss noch genauer untersucht werden.

Ebenso ist es noch durch weitere Untersuchungen zu entscheiden, ob die abgelagerte Harnsäure direct aus dem Adenin entstanden ist, oder ob das Adenin, bez. dessen Oxydationsproducte, nur die Ablagerung des aus anderem Material im Organismus gebildeten Harnsäure in der Niere begünstigt haben.

Diese letztere Möglichkeit schien dadurch nahegelegt, dass bei einzelnen Versuchen der Harnsäuregehalt des Harnes nach der Adeninfütterung geradezu vermindert erschien. Doch konnte darauf ein entscheidender Werth nicht gelegt werden, da die Ernährung der Thiere in der Regel nach der Adenineingabe nicht mehr normal von statten ging.

1) Insbesondere wäre vielleicht an directe Oxydationsproducte des Adenins, an das mit dem Guanin isomere 6-Amino-2-Oxypurin, sowie das 6-Amino-2-8-Dioxy-purin (s. Emil Fischer, Berichte der Deutsch. chem. Gesellschaft Bd, XXX, S. 2245, 1897) zu denken, welche zum Xanthin (6-2-Dioxyypurin), bzw. zur Harnsäure (Trioxypurin) in demselben Verhältniss stehen, wie das Adenin (6 Amino-purin) zu dem Hypoxanthin (6-Oxypurin).

2) Der gelegentliche Befund von charakteristischen Stechapfelformen in einzelnen Harnkanälchen (Fig. 4 g) lässt daran denken, dass möglicherweise das harnsaure Ammon bei dem Zustandekommen der Ablagerungen eine gewisse Rolle spielt. Es ist vielleicht sogar die Möglichkeit discutabel, ob nicht überhaupt bei allen Ablagerungen von Uraten im Organismus, also z. B. auch bei der Entstehung der Gichtherde, die Abscheidung zunächst in Form des unter bestimmten Bedingungen fast unlöslichen harnsauren Ammons erfolgt, welches sich nachträglich unter dem Einfluss der Gewebssäfte in Natriumbiurat oder freie Harnsäure umsetzen könnte. Durch eine solche Annahme könnte man vielleicht manchen Schwierigkeiten aus dem Wege gehen, die sich aus den Löslichkeitsverhältnissen der Natriumurate, in Anbetracht der geringen Concentration der Harnsäure im Blute, für die Annahme einer directen Abscheidung dieser Verbindungen ergeben.

Um diese Möglichkeit weiter zu prüfen, habe ich einen Versuch in der Weise angestellt, dass an einen Hund neben kleineren Mengen von Adenin grössere Mengen von Harnsäure verfüttert wurden.

Versuch XXII. Ein Hund von 8200 g Körpergewicht erhält am 25. Juli abends 0,5 g synthetisch dargestelltes Adenin, sowie 2,0 g Harnsäure in 200 ccm Milch vertheilt.

Am 26. Juli 320 ccm Harn von schwach alkalischer Reaction, eiweissfrei, mit 0,035 Harnsäure.

Um 9 Uhr vormittags, um 1 Uhr und um 8 Uhr nachmittags erhält der Hund je 0,5 Adenin und je 2,0 Harnsäure. Das Thier ist munter, frisst sein Futter und erbricht nicht. Nur ist die Herzaction etwas erregt, und der Herzstoss sehr verstärkt. Erst am folgenden Morgen die erste Kothentleerung von fester Consistenz.

Am 27. Juli 910 ccm Harn von schwach alkalischer Reaction, sp. G. 1017, enthält Eiweiss. Geringes Sediment von Tripelphosphaten und vereinzelten gelben Sphärolithen. In der 24stündigen Harnmenge 0,027 Harnsäure und über 0,5 Allantoin.

Um 12 Uhr mittags und um 8 Uhr abends werden je 0,25 Adenin mit je 2,0 Harnsäure verfüttert.

Am 28. Juli 770 ccm Harn, schwach alkalisch (die Reaction unmittelbar nach der Entleerung geprüft), enthält ziemlich viel Eiweiss, zahlreiche Leukocyten, vereinzelte Cylinder und abgestossene Nierenepithelien, sowie spärliche Sphärolithen zum Theil frei, zum Theil in Cylindern eingeschlossen.

8 Uhr vormittags 0,25 Adenin + 2,0 Harnsäure verabfolgt. Mittags Erbrechen.

8 Uhr nachmittags abermals 0,25 Adenin + 2,0 Harnsäure eingegeben. In der Nacht Erbrechen.

Am 29. Juli wird der Hund durch Verbluten getödtet.

In der Niere die gleichen Ablagerungen, wie in den früheren Versuchen, nur noch etwas spärlicher als in Versuch XXI.

Eine bestimmte Schlussfolgerung liess sich aus diesem Versuche wohl kaum ziehen. Vielleicht aber wäre die Frage durch geeignete Variation der Versuchsbedingungen auf ähnlichem Wege doch noch zu entscheiden.

Äehnliche Ablagerungen in den Nieren, wie die hier beschriebenen sind von Heidenhain¹⁾ und von Damsch²⁾ nach intravenösen Injectionen von harnsaurem Natron bei Kaninchen beobachtet worden. Ebstein und Nicolaier³⁾ haben neuerdings eine sehr eingehende Beschreibung der bei diesen Thieren nach intravenöser, subcutaner und intraperitonealer Einverleibung von Harnsäure zu

1) Heidenhain, Versuche über den Vorgang der Harnabsonderung. Pflüger's Archiv Bd. IX, S. 23, 1874.

2) s. Ebstein, Natur und Behandlung der Gicht, S. 78. Wiesbaden 1882. — Natur und Behandlung der Harnsteine, S. 77. Wiesbaden 1884.

3) Ebstein und Nicolaier, Ueber die Ausscheidung der Harnsäure durch die Nieren. Virchow's Archiv Bd. CXLIII, S. 337, 1896.

stande kommenden Veränderungen in der Niere gegeben. Abgesehen von gewissen Differenzen in der Deutung der mikroskopischen Bilder — auf welche wir hier nicht eingehen wollen —, sowie von geringen Abweichungen, die sich aus der Art der Application und dem Zeitraum zwischen Einverleibung der Substanz und der Section der Thiere erklären mögen, stimmen die hier beschriebenen Veränderungen im wesentlichen mit den Befunden dieser Autoren überein.

Nach längere Zeit fortgesetzter Fütterung mit grossen Mengen von Harnsäure (5—10 g täglich, 1290 g im Laufe von 5½ Monaten) bei einem Hunde haben Ebstein und Nicolaier in den Nieren und den ableitenden Harnwegen weder makroskopisch, noch mikroskopisch irgend welche Veränderungen nachweisen können.¹⁾

Auch ich habe bei dem Hunde, der mit Hypoxanthin gefüttert war, und der die letzten 3 Tage vor seinem Tode noch täglich 500 g Thymus verzehrt hatte, wobei sehr grosse Mengen von Harnsäure im Harne ausgeschieden wurden, keine Spur von Harnsäureablagerungen in der Niere nachweisen können.

Dagegen habe ich bei den sechs verschiedenen Hunden, deren Nieren nach der Fütterung mit Adenin untersucht wurden, und zwar in gleicher Weise bei Verwendung des aus der Salmonucleinsäure abgespaltenen, wie des synthetisch dargestellten Präparats, diese Ablagerungen in keinem einzigen Falle vermisst.

So ergibt sich denn aus den hier beschriebenen Beobachtungen folgende eigenartige Erscheinung:

Die Nucleinsäure — aus welcher die Atomgruppe des Adenins abgespalten werden kann — sowie das Hypoxanthin —, welches seinerseits durch oxydative Spaltung aus dem Adenin dargestellt werden kann²⁾ — führen zu einer erheblich gesteigerten Harnsäureproduction, die beim Menschen in einer gesteigerten

1) Gigot-Suard (L'uricémie, Paris 1875) hat 10 Hunde 1—2 Monate lang mit 0,2—4,0 g Harnsäure pro die gefüttert. Die von ihm beschriebenen Veränderungen der verschiedensten Organe, welche danach zustande gekommen sein sollen, bieten sehr wenig Charakteristisches. Doch fanden sich in einem einzigen von diesen 10 Versuchen auch Harnsäureablagerungen in den Nieren, welche an die von uns beobachteten erinnern.

Bei Kaninchen hat Neubauer (cit. bei Ebstein, Gicht. S. 77) nach Fütterung mit grossen Dosen (bis zu 12 g täglich) Harnsäure keinerlei Störungen beobachtet.

2) Durch Behandlung mit salpetriger Säure kann Adenin in Hypoxanthin übergeführt werden (Kossel, Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. X, S. 258, 1886. — Krüger, Ibid. Bd. XVIII, S. 444, 1893). Desgleichen durch die Einwirkung der Fäulniss (Schindler, Ibid. Bd. XIII, S. 432, 1889.)

Harnsäureausscheidung, beim Hunde neben einer solchen auch besonders in dem reichlichen Auftreten von Allantoin ihren Ausdruck findet. Sie bewirken aber keine Ablagerungen und überhaupt keine Veränderungen in den Nieren.

Im Gegensatz dazu hat die Zufuhr des präformirten Adenins weder eine gesteigerte Harnsäureausfuhr, noch eine Allantoinausscheidung zur Folge, veranlasst aber sehr reichliche Harnsäureablagerungen in den Nieren, die mit entzündlichen Veränderungen dieser Organe einhergehen.

Besonders bemerkenswerth erscheint dieses Verhalten, wenn man noch in Betracht zieht, dass diese Ablagerungen in den Nieren von Hunden gefunden wurden, also bei Thieren, die sehr wenig Harnsäure auszuschcheiden pflegen, und eingeführte oder im Organismus gebildete Harnsäure mit Leichtigkeit weiter zu oxydiren im stande sind.

Hervorzuheben ist ferner, dass die Ablagerung der Harnsäure in den Nieren zustandekam, obgleich die Menge des Harnes nach der Adeninfütterung in der Regel vermehrt war, und die Reaction desselben häufig neutral oder alkalisch war.

Es wäre nicht schwer, irgend welche Vermuthungen darüber zu äussern, auf welche Momente die hier beobachteten Erscheinungen möglicherweise zurückgeführt werden könnten. Doch dürfte es vor der Hand wichtiger sein, durch fortgesetzte experimentelle Untersuchungen das Material an beobachteten Thatsachen noch weiter zu vermehren.

Zunächst wird es vielleicht möglich sein, durch Prüfung des Verhaltens noch anderer Purinderivate Aufklärung darüber zu erhalten, in wiefern die besondere Art der Verkettung des Purinkernes mit anderen Atomcomplexen für das Schicksal desselben im Organismus maassgebend ist.

Der oben (S. 406) erwähnte Versuch mit Eingeben von Coffein (Trimethylxanthin) am Menschen mag bereits als ein Beitrag zur Entscheidung dieser Frage gelten. Ueber den Einfluss des Coffeins auf die Harnsäureausscheidung existiren bis jetzt nur unsichere Angaben. Sicher ist es, dass, wie die Untersuchungen von Albanese¹⁾ Rost²⁾, Bondzynski und Gottlieb³⁾ ergeben haben, diese Sub-

1) Albanese, Archiv f. experiment. Pathol. u. Pharmacol. Bd. XXXV, 1894.

2) Rost, Ueber die Ausscheidung des Coffeins und Theobromins im Harn. Ibid. Bd. XXXVI, 1895. Inaug.-Dissert. Heidelberg 1895.

3) Bondzynski und Gottlieb, Ueber Methylxanthin, ein Stoffwechselproduct des Theobromins und Coffeins. Ibid. Bd. XXXVI, S. 45, 1895.

stanz zum Theil unverändert in den Harn übergeht, zum Theil in Methylxanthin (Heteroxanthin Salomon's) übergeführt wird. Die Angaben über den Uebergang derselben in Harnsäure aber, soweit sie bis jetzt in der Litteratur vorliegen (Haig,¹⁾ Hess und Schmoll²⁾) halten einer strengeren Kritik nicht Stand. Der hier angeführte Versuch am Menschen ergab in dieser Hinsicht ein viel klareres negatives Resultat, welches durch den Vergleich mit der Wirkung des Hypoxanthins bei demselben Individuum noch an Bedeutung gewinnt.

Wie sehr die verschiedene Verkettungsweise selbst vollkommen gleicher Atomcomplexe für die hier in Rede stehenden Verhältnisse von Einfluss sein kann, zeigte sich auch in 2 Versuchen, die ich mit zwei isomeren Purinderivaten angestellt habe, und die hier kurz erwähnt werden mögen. Es handelte sich um 9-Methyladenin und 7-Methyladenin, die synthetisch nach dem Verfahren von Emil Fischer, von Boehringer und Söhne dargestellt waren.³⁾

Versuch XXIII. Ein Hund von 8 kg Gewicht, der bei gemischtem Futter 530 ccm Harn mit 0,021 Harnsäure in 24 Stunden ausgeschieden hatte, erhält am 13. Mai im Laufe des Tages 3,0 g, am 14. Mai noch 2,0 g 9-Methyladenin.

Bis zum 14. Mai morgens 480 ccm Harn mit 0,048 Harnsäure.

Bis zum 15. Mai morgens 275 ccm Harn mit 0,077 Harnsäure.

Bis zum 16. Mai morgens 400 ccm Harn mit 0,048 Harnsäure.

Im Urin vom 14. Mai ist auch Allantoin nachweisbar.

Versuch XXIV. Derselbe Hund erhält am 18. Mai 3,0 g 7-Methyladenin.

Bis zum 19. Mai 620 ccm Harn mit 0,014 Harnsäure.

Bis zum 20. Mai 430 ccm Harn mit 0,017 Harnsäure.

Im Urin vom 19. Mai ist Allantoin nicht nachweisbar; dagegen krystallisirt etwa 1,4 g einer Base mit 46,6 Proc. Stickstoff aus, welche unverändertes 7-Methyladenin zu sein scheint (Methyladenin enthält 47,0 Proc. N).

Es mag hier auf das Ergebniss dieser beiden Versuche einstweilen kein zu grosser Werth gelegt werden. Es ist ja auch nicht

1) Haig, Uric acid in causation of disease. London 1896.

2) Hess und Schmoll, loc. cit.

3) 9-Methyladenin =
$$\begin{array}{c} \text{N}=\text{C.NH}_2 \\ | \quad | \\ \text{HC} \quad \text{C}-\text{N} \begin{array}{l} \diagup \text{CH} \\ \diagdown \end{array} \\ || \quad || \\ \text{N}-\text{C}-\text{N.CH}_3 \end{array}$$
 s. Emil Fischer, Ber. d. Dtsch. chem. Gesellsch. Bd. XXX, S. 2250, 1897.

7-Methyladenin =
$$\begin{array}{c} \text{N}=\text{C.NH}_2 \\ | \quad | \\ \text{HC} \quad \text{C}-\text{N.CH}_3, \\ || \quad || \\ \text{N}-\text{C}-\text{N} \begin{array}{l} \diagup \text{CH} \\ \diagdown \end{array} \end{array}$$
 s. Emil Fischer, Ber. d. Dtsch. chem. Gesellsch. Bd. XXXI, S. 111, 1898.

ausgeschlossen, dass nur verschiedene Löslichkeitsverhältnisse und die möglicherweise damit im Zusammenhang stehende verschiedene Geschwindigkeit der Resorption und Ausscheidung die beobachteten Differenzen zu erklären vermögen. Vielleicht wird aber auf dem angedeuteten Wege noch weiteres zu ermitteln sein.

Durch die glänzenden Untersuchungen von Emil Fischer über die Purinderivate ist jedenfalls die Möglichkeit gegeben, auf diesem Wege einen klareren Einblick in die Vorgänge bei dem Abbau jener Substanzen zu gewinnen, deren hervorragende Bedeutung für den thierischen Organismus schon allein in dem Vorkommen derselben in den höchst organisirten Elementen des Körpers, den Zellkernen und Spermatozoën, zu Tage tritt.

Weiterhin dürfte es von Interesse sein, die Folgen einer längere Zeit fortgesetzten Zufuhr kleinerer Gaben von Adenin kennen zu lernen, und zu prüfen, ob auf irgend eine Weise auch in anderen Organen, als in den Nieren, Ablagerungen von Harnsäure hervorgerufen werden können.

Einstweilen verzichte ich gern darauf, irgend welche weitergehenden Schlüsse aus den bisher ermittelten Thatsachen zu ziehen oder gar auf Grund derselben eine Erklärung für die pathologischen Harnsäureablagerungen im Organismus zu versuchen, wenn ich es auch nicht für ausgeschlossen halte, dass die hier mitgetheilten Beobachtungen für die Lehre von der Gicht, der Steinbildung und den harnsauren Infarkten der Niere in Zukunft noch eine besondere Bedeutung gewinnen könnten.

Einige sichere Schlüsse negativer Art ergeben sich bereits jetzt aus unseren Beobachtungen: Zunächst sind besonders die Versuche mit Hypoxanthinfütterung geeignet, die Ansicht zu widerlegen, dass nur die in den Zellkernen des Organismus, bez. in den Leukocyten organisirten Nucleïne Harnsäure zu liefern im stande sind. Desgleichen dürfte die andere Hypothese von Horbaczewski, derzufolge aus einem in der Nucleinsäure enthaltenen Atomcomplexe nur entweder Harnsäure oder Xanthinbasen entstehen können (s. oben S. 378), in dieser Form nach den Ergebnissen unserer Versuche nicht aufrecht zu erhalten sein.

In Bezug auf die Pathologie der Harnsäure wäre schon jetzt darauf hinzuweisen, dass, wie wir gesehen haben, eine Ablagerung von Harnsäure in den Nieren zustandekommen kann unabhängig von der Menge der im Harn ausgeschiedenen Harnsäure, unabhängig von der Concentration und unabhängig von der Acidität des Harnes, dass vielmehr andere

Bedingungen maassgebend dafür sind, wieviel von der gebildeten Harnsäure in ungelöster Form abgelagert wird.

Unsere Versuche — bei welchen es zum erstenmal gelungen ist, bei Säugethieren eine Ablagerung, nicht präformirt eingeführter, sondern im Stoffwechsel entstandener Harnsäure experimentell hervorzurufen — eröffnen vielleicht die Möglichkeit, diese Bedingungen näher zu prüfen und die genaueren Vorgänge bei der Ablagerung der Harnsäure, sowie deren weitere Folgen kennen zu lernen.

Erklärung der Abbildungen.

- Fig. 1.** Schnitt durch die Niere eines mit Adenin gefütterten Hundes (Versuch XX). Lupenvergrößerung $1\frac{1}{2}:1$. Nach Härtung in Alkohol in Canadabalsam eingelegt, in auffallendem Licht. Punktförmige Einlagerungen in der Rinde, streifenförmige in der Pyramide.
- Fig. 2 und 3.** Derselbe Schnitt; Zeiss AA, Ocul. 4; Vergrößerung 90:1.
Fig. 2. Ablagerungen in der Rinde, die Glomeruli freilassend.
Fig. 3 Ablagerungen in den Sammelröhrchen der Pyramiden.
- Fig. 4.** Nierenrinde; Zeiss DD, Ocul. 4; Vergrößerung 420:1. Härtung in Alkohol, Färbung mit Hämatoxylin. (Combinirtes Bild.)
 a. Normale, b. erweiterte Harnkanälchen.
 c., d., e., krystallinische Ablagerungen, die Epithelien der Harnkanälchen hervorwölben.
 f. Harnkanälchen, von einem Sphärolithen ausgefüllt; die Epithelien platt gedrückt.
 g. stechapfelförmige Abscheidung
 h. freie Sphärolithen
 i. kleinere Körner
 k. Glomerulus, wenig verändert, nur einzelne abgelöste Epithelien.
 l. Rundzellenkerne zwischen den Epithelien der Harnkanälchen, die mit Ablagerungen angefüllt sind. } im Lumen von Harnkanälchen.
- Fig. 5 und 6.** Nierenrinde; Zeiss homog. Immers. $\frac{1}{12}$, Ocul. 4; Vergrößerung 925:1.
Fig. 5. Garbenförmig angeordnete Krystalle zwischen abgestossenen und veränderten Epithelien. Daneben vollkommen normales Harnkanälchen.
Fig. 6. Drusenartig angeordnete Krystalle, bei a die Epithelien hervorwölben, bei b von losgelösten Epithelien umgeben.
- Fig. 7 und 8.** Sammelröhrchen; Zeiss DD, Ocul. 4; Vergrößerung 420:1.
Fig. 7. In dem erweiterten Kanälchen zahlreiche, meist von Zellen umgebene Sphärolithen; daneben normales Kanälchen.
Fig. 8. In einem zelligen Cylinder eingeschlossene Kugeln und Körner innerhalb eines Harnkanälchens.
- Fig. 9.** Grenzzone; Zeiss DD, Ocul. 2; Vergrößerung 240:1. Hyaline Schollen in Harnkanälchen.
- Fig. 10.** Nierenrinde; Zeiss DD, Ocul. 4; Vergrößerung 420:1. Beginnende Zellinfiltration in der Wandung eines Harnkanälchens um einen Sphärolithen herum.
- Fig. 11 und 12.** Grenzzone; Zeiss DD, Ocul. 2; Vergrößerung 240:1.
Fig. 11. Zellanhäufung um einen Sphärolithen, dessen Lage in einem stark erweiterten Harnkanälchen kaum noch zu erkennen ist.
Fig. 12. Grössere herdförmige Zellanhäufung zwischen den Harnkanälchen, mehrere Sphärolithen einschliessend.

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 6.

Fig. 7.

Fig. 8.

Fig. 9.

Fig. 10.

Fig. 11.