

Es scheint mir nach alledem, dass, entgegen der schematischen Formulirung, die Molekel des Stickstoffgases in wesentlich anderer Weise constituirt sein dürfte, als diejenige des Sauerstoffgases, es wäre aber zur Zeit noch verfrüht, eine Vorstellung über die Natur dieses constitutiven Unterschiedes zu äussern.

Heidelberg, im December 1896.

28. Adolf Jolles: Ueber das Auftreten und den Nachweis von Nucleohiston im Harn.

[Aus dem chemisch-mikroskopischen Laboratorium von Dr. Max und Dr. Adolf Jolles in Wien.]

(Eingegangen am 30. December.)

Als Harnbestandtheil ist das Nucleohiston, soweit ich aus der Literatur entnehmen konnte, bisher noch nie gefunden worden, hingegen gelang es Kolisch und Burian¹⁾ in einem einzigen Falle von Leukämie das eine Spaltungsprodukt — das Histon, im Harn nachzuweisen. — Im Nachstehenden gestatte ich mir nun, über den Nachweis des Nucleohistons als Kernsubstanz im Harn zu berichten.

Im October v. J. erhielt ich einen von einem Falle von Pseudo-leukämie stammenden Harn zur Untersuchung, bei welchem durch Zusatz von Essigsäure ein starker Niederschlag beobachtet werden konnte.

In der Annahme, dass dieser durch Essigsäure ausgefällte Körper Nucleoalbumin wäre, habe ich den Essigsäure-Niederschlag abfiltrirt, in verdünntem kohlensauren Natron gelöst und schwefelsaure Magnesia bis zur Sättigung eingetragen. Ich erzielte hierbei jedoch nur eine sehr schwache Trübung, die in gar keinem Verhältnisse zu dem durch blossen Zusatz von Essigsäure hervorgerufenen Niederschlage stand.

Durch Verarbeitung von circa $\frac{1}{2}$ Liter Harn in obiger Weise vermochte ich in dem Filtrerrückstande noch keine Phosphor-Reaction zu erhalten; hingegen konnte schon in dem aus circa 150 ccm Harn erhaltenen Essigsäure-Niederschlage, welcher mehrmals zur Reinigung in Alkali gelöst und durch Essigsäure gefällt worden war, Phosphorsäure qualitativ deutlich constatirt werden.

Die relativ starke Phosphor-Reaction einerseits, und die Nicht-fällbarkeit durch Sättigung mit schwefelsaurer Magnesia andererseits, liessen schon mit grosser Wahrscheinlichkeit annehmen, dass es sich bei dem durch Essigsäure fällbaren Eiweisskörper um Nucleohiston

¹⁾ Zeitschrift für klinische Medicin, Bd. XXIX, S. 374.

handeln dürfte. Zur näheren Charakterisirung dieses Körpers wurde der durch Essigsäure fällbare Eiweisskörper aus einer zweiten Harnprobe, bei welcher die Trübung in noch höherem Maasse auftrat, als bei der ersten Harnprobe, in nachstehender Weise isolirt:

Circa 600 ccm Harn wurden etwa $\frac{1}{4}$ Stunde auf dem Wasserbade bei circa 60–70° erwärmt, und der Harn hierauf filtrirt. Das Filtrat wurde in einem entsprechenden Schüttelcylinder mit Essigsäure vorsichtig versetzt und — um den entstandenen, sehr fein vertheilten Niederschlag schneller und vollständiger zum Absetzen zu bringen — mit etwas Kieselguhr kräftig geschüttelt. Nachdem sich der Niederschlag zu Boden gesetzt hatte, wurde er auf einem Filter gesammelt. Das Filter sammt Niederschlag wurde hierauf in ein Erlenmeyer-Kölbchen gebracht, mit verdünnter Natronlauge (ca. 4 pCt.) digerirt und dann filtrirt. Das Filtrat, in welchem sich der gelöste Eiweisskörper befand, wurde neuerdings mit Essigsäure gefällt, und die Reinigung des Eiweisskörpers noch zweimal wiederholt. Um den zum dritten Male mit Essigsäure gefällten Eiweisskörper, welcher in so fein vertheiltem Zustande in der Flüssigkeit suspendirt war, dass er sich nicht vollkommen zu Boden setzte, vollständiger und schneller zum Absetzen zu bringen, wurde das Gemisch mit dem gleichen Gewicht absoluten Alkohols versetzt und kräftig geschüttelt. Schon nach relativ kurzer Zeit setzte sich der Niederschlag zu Boden, derselbe wurde auf dem Filter gesammelt, mit warmem Alkohol und kaltem Aether behandelt, im Exsiccator und dann bei 100° C. bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Die gesammte trockene Substanz wog 0.1936 g.

Diese Menge wurde in einem Gemisch aus 2 Theilen Salpeter und 1 Theil Soda verascht, die Phosphorsäure mit molybdänsaurem Ammon gefällt, der gelbe Niederschlag auf dem Filter mit möglichst warmem verdünnten Ammoniak (1 Theil Ammoniakflüssigkeit, 3 Th. Wasser) gelöst, die erhaltene Lösung annähernd mit Salzsäure neutralisirt, abgekühlt, hierauf die Phosphorsäure in bekannter Weise durch Magnesiainischung gefällt und als pyrophosphorsaure Magnesia bestimmt.

0.1936 g trockene Substanz gaben 0.0217 g $Mg_2P_2O_7$; = 0.00609 P, in Procenten ausgedrückt : 3.14 pCt.

Nach Lilienfeld (Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. XVIII, S. 480) zeigt das reine Nucleohiston im Mittel einen Phosphor-Gehalt von 3.025 pCt. Die obige Zahl giebt somit ein gut übereinstimmendes Resultat. Ich habe auch aus einer 3. Harnprobe das Nucleohiston in obiger Weise rein dargestellt und den Phosphor-Gehalt bestimmt. Allerdings mussten, da der Essigsäure-Niederschlag in bedeutend geringerem Grade auftrat, als bei der 1. und 2. Harnprobe, ca. 1200 ccm Harn verarbeitet werden.

Es resultirte:

0.1382 g trockene Substanz gaben 0.0161 g $Mg_2P_2O_7 = 0.0045 P$,
in Procenten ausgedrückt: 3.25 pCt. P.

Im zweiten Falle ist der P-Gehalt um ein Minimales erhöht, vermuthlich infolge der Spuren von Nucleoalbumin, welche dem Essigsäure-Niederschlage beigemengt waren. Jedenfalls fühle ich mich schon nach den erhaltenen Phosphor-Bestimmungen für berechtigt, den untersuchten Körper als Nucleohiston anzusprechen.

Zum sicheren Nachweise des Nucleohistons war ich nunmehr bemüht, die charakteristischen Spaltungsprodukte dieses Körpers festzustellen. Zu diesem Zwecke wurde der gewonnene Eiweisskörper wiederholt zur Reinigung in bereits angegebener Weise in Alkali gelöst und durch Essigsäure gefällt und dann zum Nachweise der Spaltungsprodukte benutzt. An die Abspaltung der Nucleinsäuren, sowie an die Isolirung der Nucleinbasen (Adenin und Hypoxanthin) konnte ich leider wegen Mangel an Material nicht herantreten.

Ich habe demzufolge versucht, das basische Spaltungsprodukt des Nucleohistons, das Histon, nachzuweisen. Zu diesem Zwecke wurde ein Theil des Niederschlages mit circa einprocentiger Salzsäure mehrere Stunden behandelt, dann filtrirt, und zu einem Theile des salzsäurehaltigen Filtrates Ammoniak zugesetzt. Es konnte sofort das Auftreten einer starken Trübung beobachtet werden, welche sich nach kräftigem Schütteln in Form eines flockigen Niederschlages allmählich zu Boden setzte. Diese Reaction ist für das Histon charakteristisch. Ein anderer Theil des salzsäurehaltigen Filtrates gab mit Natronlauge und Kupfersulfat schon in der Kälte starke Biuretreaction. Endlich wurde die Coagulirbarkeit des Eiweisskörpers in der Hitze constatirt, wobei das entstehende Coagulum sich in Mineralsäuren sehr leicht auflöste.

Somit zeigte das durch Einwirkung von Salzsäure erhaltene Spaltungsprodukt alle charakteristischen Eigenschaften des Histons, und es ist wohl nunmehr ausser Zweifel, dass der in dem untersuchten pseudoleukämischen Harne durch Essigsäure fällbare Eiweisskörper mit dem Nucleohiston identisch ist.