

## **Ueber das Nuclein der Hefe.**

Von Dr. **Albrecht Kossel**,

Assistent am physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg.

(Der Redaction übergeben am 15. Juni).

### **Zweiter Theil.**

In einer früheren Abhandlung<sup>1)</sup> versuchte ich darzuthun, dass das Nuclein der Hefe bei der Einwirkung des siedenden Wassers in Phosphorsäure, Hypoxanthin und einen eiweissähnlichen Körper zerfällt. Die Untersuchungen über diesen Gegenstand wurden seitdem fortgesetzt, lieferten indess noch keine abschliessenden Resultate.

Die Veranlassung zur Veröffentlichung der seither angestellten Versuche ist eine Abhandlung des Herrn Loew<sup>2)</sup>.

Derselbe hat die im ersten Theile dieser Arbeit angegebenen Versuche im Wesentlichen bestätigt und ist in Folge dessen von seinen früheren Ansichten<sup>3)</sup> über diesen Gegenstand zurückgekommen, versucht aber trotzdem meine Untersuchungsmethode anzufechten.

Fernerhin wirft mir Herr Loew — unverständliche Gründe supponirend — eine zu langsame Publication und die «Vernachlässigung des Studiums einer so interessanten Verbindung» vor. Ich bemerke, dass ich dieses Studium noch fortzusetzen gedenke — dass eine vorsichtige Publication auf diesem Gebiete am Platze ist, darüber dürfte Herr Loew mittlerweile genügend aufgeklärt sein. Insbesondere halte ich die durch meine Untersuchung eruirten Thatsachen noch nicht für genügend, um auf Grund derselben Hypothesen über die Constitution des Nucleins auszusprechen.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift III, p. 284.

<sup>2)</sup> Archiv f. d. ges. Physiologie XXII, p. 62.

<sup>3)</sup> Journal für prakt. Chemie. N. F. XVII, p. 419; Annalen der Chemie, Bd. 193, p. 322.

Eine Entgegnung auf die kritischen Bemerkungen des Herrn Loew scheint mir überflüssig, es sei mir nur gestattet, einen Irrthum desselben zurückzuweisen. Herr Loew gibt an, Hoppe-Seyler habe als «Haupteigenschaften» des Nucleïns die Unverdaulichkeit durch Magensaft und die Leichtzersetzlichkeit in alkalischer Lösung bezeichnet: diese Angabe des Herrn Loew ist unrichtig.

### Ueber das eiweissähnliche Spaltungsprodukt des Nucleïns.

Der eiweissartige Körper, dessen Zusammensetzung im ersten Theile dieser Arbeit angegeben ist, scheint in zwei Modificationen zu existiren.

Kocht man das frisch gefällte Nucleïn mit Wasser, so löst sich dasselbe, wie ich bereits vor längerer Zeit gefunden habe, vollständig auf. In dieser Lösung ist ein Eiweisskörper vorhanden, welcher die eine Eigenschaft des Acidalbumins zeigt, dass er aus der schwach sauren Lösung durch Eintragen von Steinsalz gefällt wird. Ebenso entsteht durch Neutralisation mit kohlen-saurem Natron ein Niederschlag, der in einem Falle 47,7% der gesammten in Lösung befindlichen Substanz (bei 110° getrocknet) betrug.

Der so gefällte Körper wurde der weiteren Spaltung mit Salzsäure (unter Zusatz von etwas Zinnchlorür) unterworfen, nach Behandlung mit Schwefelwasserstoff und Entfernung der Salzsäure durch Kupferoxydul krystallisirte aus der eingedampften Lösung eine Masse, aus welcher Tyrosin isolirt werden konnte. Dieser Körper wurde an seinen Löslichkeitsverhältnissen, seinen Krystallen, der Reaction gegen Millon's Reagens und endlich durch die Bildung des tyrosinschwefelsauren Eisens (Pirias Reaction) erkannt. Xanthinkörper waren nicht nachweisbar.

Andere Eigenschaften zeigt dieser eiweissähnliche Körper wenn das Nucleïn vor der Spaltung mit Alkohol behandelt war. Die durch siedendes Wasser abgespaltene Substanz besitzt in diesem Falle die früher beschriebenen Eigenschaften.

Der Körper lieferte bei der Spaltung mit Salzsäure ebenfalls krystallisirte Produkte, die indess noch nicht näher charakterisirt werden konnten. Ein grosser Theil widersteht hartnäckig selbst der Einwirkung rauchender Salzsäure. Bemerkenswerth und von den Eiweisskörpern abweichend ist das Verhalten gegenüber Pepsin- und Trypsinlösung. Es wurden 0,4630 gr. dieses Körpers im gepulverten Zustande mehrere Tage lang der Wirkung eines Infuses der Schweinemagen-Schleimhaut ausgesetzt, aus der Flüssigkeit wurden 0,4475 gr. wiedergewonnen, es waren also nur 3,35% in Lösung gegangen. Von derselben Substanz wurden 0,4405 gr. einer kräftigen anderthalbtägigen Pancreasfäulniss unterworfen; wiedergewonnen wurden 0,3905 gr., entsprechend einem Verluste von 11,35%. Die Widerstandsfähigkeit dieses Körpers gegen eiweissverdauende Fermente ist grösser, als die des Nucleïns selbst. Von dem mit Alkohol behandelten und bei 110° getrockneten Nucleïns blieben nach 12stündiger, kräftiger Pepsinverdauung nur 33,7% übrig.

#### Lösliche Spaltungsprodukte.

Unter den löslichen Spaltungsprodukten wurden neben Phosphorsäure, Xanthin und Sarkin noch peptonähnliche Körper gefunden, die in der Kälte mit Natronlauge und Kupfersulfat Violettfärbung zeigten und die vielleicht der Einwirkung der Phosphorsäure auf den eiweissähnlichen Körper ihre Entstehung verdanken.

Die durch Kochen des Nucleïns mit Wasser erhaltene Lösung enthält die Phosphorsäure theilweise noch in gebundener Form und ist erst nach vorhergehender Veraschung vollkommen durch Magnesiamischung fällbar.

20 Cc. einer derartigen Lösung lieferten an pyrophosphorsaurer Magnesia:

	Direct gefällt.	Nach der Veraschung.
Präparat VI	0,0435	0,0567
» VII	0,0678	0,0934.

Die Bestimmung der Phosphorsäure im unzersetzten Nucleïn lieferte noch fernerhin Zahlen, die zwischen 3 und 4%

Phosphor ergaben. Sieht man von dem Präparat I ab, so sind die bisher gefundenen Zahlen folgende:

Präp.	III	IV	V	VI	VII
Phosphor in Procenten.	3,28	3,55	3,94	3,3	3,95.

Ausserdem fand Loew in seinem Präparate 3,70% P.

Ich glaube aus diesen immerhin annähernd übereinstimmenden Zahlen den Schluss ziehen zu dürfen, dass diese Körper keine sehr bedeutenden Verunreinigungen enthielten, dass insbesondere die eiweissähnliche Substanz die bei der Zersetzung in so bedeutender Menge auftritt, wirklich als ein Spaltungsprodukt und nicht als eine Verunreinigung des Nucleins zu betrachten ist.

Wird die wässrige Lösung der Spaltungsprodukte durch Baryt von der Phosphorsäure befreit und mit Alkohol versetzt, so werden peptonartige Körper gefällt, während das Alkoholextract Substanzen enthält, die in ammoniakalischer Lösung durch Silbernitrat niedergeschlagen werden. In diesem Niederschlage ist Hypoxanthin enthalten und kann daraus leicht durch Umkrystallisiren aus heisser Salpetersäure als Silbernitratverbindung in reinem Zustande erhalten werden.

Der in dieser Weise gewonnene Körper enthielt nach einmaligem Umkrystallisiren 35,93% Ag, nach dreimaliger Behandlung mit heisser Salpetersäure 35,40% Ag, berechnet 35,30%.

Neben dem Hypoxanthin lässt sich noch Xanthin nachweisen. Wird die vom ausgeschiedenen Hypoxanthinsilbernitrat abfiltrirte salpetersaure Lösung mit Ammoniak übersättigt, so bildet sich nach einiger Zeit in der lebhaft gelbgefärbten Lösung ein Niederschlag.

Die quantitative Bestimmung des aus dem Nuclein abgespaltenen Hypoxanthins führte noch nicht zu übereinstimmenden Resultaten. Wurde der durch ammoniakalische Silberlösung gebildete Niederschlag (der vollkommen in warmer Salpetersäure löslich war) als Hypoxanthin-Silberoxyd in Rechnung gezogen, so ergab sich ein Procentgehalt von 2,03 (Präp. VI). Das Hypoxanthin stand in diesem Falle zur freien

(durch Magnesiämischung direct fällbaren) Phosphorsäure ungefähr in dem Molecülverhältniss 1 : 2. Wurde dieser Niederschlag aus heisser Salpetersäure einmal umkrystallisirt, so betrug die Menge des Hypoxanthins nur 1,14% des zersetzten Nucleïns. In einem anderen Präparat (Präp. VII) wurden 0,84% aus dem Hypoxanthinsilbernitrat berechnet. Wahrscheinlich sind diese Zahlen noch zu niedrig<sup>1)</sup>.

Der Einwand, dass das Hypoxanthin nur eine Verunreinigung meines Nucleïns darstelle, dürfte nicht schwer zurückzuweisen sein. Präparat VI (1,14% Hypoxanthin) war lange und sorgfältig mit verdünnter Salzsäure ausgewaschen, mehrmals vom Filter abgenommen und in Wasser zertheilt, dann mit Spiritus gewaschen und endlich mit vier Portionen Alkohol (von ca. 90%) ausgekocht.

Präparat III (0,84% Hypoxanthin) war nicht so lange mit Wasser ausgewaschen, indess 9 mal (zuletzt je 8 Stunden) mit Alkohol ausgekocht.

Bei einer derartigen Behandlung hätte etwa vorhandenes salzsaures Hypoxanthin in Lösung gehen müssen.

Ich glaube nach den mitgetheilten Resultaten das Nucleïn als die Quelle der Xanthinkörper bezeichnen zu dürfen, die nach den Untersuchungen von Schützenberger<sup>2)</sup> bei der Selbstgährung der Hefe auftreten. Daneben erfolgt bei dieser Selbstgährung eine Abgabe von Phosphorsäure<sup>3)</sup>. Beide Körper sind charakteristische Spaltungsprodukte des Nucleïns

<sup>1)</sup> Herr Loew erhielt aus seinem Präparat 5,6% Hypoxanthin. Die Abweichung dieser Zahl von der meinigen ist theilweise auf einen Druckfehler oder ein sonstiges Versehen zurückzuführen.

Nach meiner Berechnung ergibt sich aus den von Herrn Loew angegebenen Werthen 4,5%. Ausserdem scheint der Niederschlag noch eine nicht unbedeutende Menge anderer Körper euthalten zu haben, da selbst die aus der Salpetersäure umkrystallisirte Substanz so abweichende Werthe für das Silber gab: «31,5% Ag, statt 29,8». Nach meiner Berechnung enthält die Verbindung  $C_8H_4N_2O + NO_2Ag$  nicht 29,8, sondern 35,3% Ag.

<sup>2)</sup> Comptes rendus T. 78, 493. — Bulletin de la Société chimique [2] 21, 204—212.

<sup>3)</sup> B é c h a m p, Comptes rendus 61, 689.

und wir sind wohl zu dem Schluss berechtigt, dass sie auch in diesem Falle einer Zersetzung des Nucleins ihren Ursprung verdanken.

Vielleicht lässt sich durch weitere Untersuchungen eine allgemeinere Beziehung der Nucleine zu den Xanthinkörpern feststellen. Ich möchte besonders darauf hinweisen, dass das Lachssperma, welches wegen seines hohen Gehaltes an Nuclein das Material zu den bekannten Untersuchungen Mieschers lieferte, nach Piccard<sup>1)</sup> sehr reich an Sarkin und Guanin ist. Es ist beachtenswerth, dass die Xanthinkörper auch hier nicht in die ersten salzsauren Extracte übergingen.

---

<sup>1)</sup> Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch. 1874, Bd. VII, S. 1714.