

# Weitere Beiträge zur Chemie des Zellkerns.

Von

**A. Kossel.**

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts in Berlin.)  
(Der Redaktion zugegangen am 20. Februar 1886.)

## I. Ueber das Nuclein im Dotter des Hühnerei's<sup>1)</sup>.

Im Dotter des Hühnereis findet sich, wie Miescher<sup>2)</sup> gezeigt hat, eine Substanz, welche von ihm als Nuclein bezeichnet wurde. Bunge<sup>3)</sup> stellte später denselben Körper aus Eidotter dar und wies nach, dass derselbe ausser den von Miescher aufgeführten Bestandtheilen noch Eisen enthält. Bunge bezeichnete diesen Körper als «Hämatogen», da er wegen des Eisengehaltes vermuthete, dass aus diesem Nuclein der Blutfarbstoff gebildet werde<sup>4)</sup>.

Bereits früher war von einzelnen Embryologen die Frage erörtert worden, ob die bekannten Formelemente des weissen Dotters als Zellkerne zu betrachten seien, ob man annehmen dürfe, dass diese als fertige morphologische Bestandtheile aus dem Nahrungsdotter in den sich entwickelnden Embryo hineintransportirt würden. Diese Fragen schienen durch die Ent-

<sup>1)</sup> Vorläufige Mittheilung in den Verhandlungen der physiologischen Gesellschaft zu Berlin, Jahrgang 1884/85, Nr. 9 und 10, S. 27.

<sup>2)</sup> Medicinisch-chemische Untersuchungen, herausgegeben von Hoppe-Seyler, S. 502.

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 49.

<sup>4)</sup> Die Analysen Bunge's ergaben einen niedern P und S und einen höheren N-Gehalt als die Miescher's.

	Miescher:	Bunge:
P	6,9	5,19
N	13,46	14,73
S	0,99	0,55

deckung Mieschers entschieden, denn es war gezeigt worden, dass die erwähnten körperlichen Elemente aus einem Stoff bestehen, welcher mit dem characterischen Bestandtheil der Zellkerne übereinstimmt; dass ferner dieselbe Substanz in beträchtlicher Menge im gelben Dotter erhalten ist. Wenn man selbst nicht annehmen wollte, dass die Zellkerne morphologisch präformirt im Nahrungsdotter vorhanden seien, so musste man nach dem Befund Mieschers dennoch zu der Ansicht gelangen, dass eine fertige Kernmasse im Nahrungsdotter daliege, bereit, in den Leib des Hühnchens aufgenommen und hier geformt zu werden.

Diese physiologischen Gesichtspunkte veranlassten mich, das Nuclein des Dotters mit dem des Zellkerns hinsichtlich seiner Spaltungsprodukte zu vergleichen. Mehrfache Versuche führten mich zu dem Resultat, dass das Nuclein des Dotters in chemischer Hinsicht nicht mit dem Nuclein der Zellkerne übereinstimmt. Bei der Zersetzung des Dotternucleins durch siedende verdünnte Säuren bilden sich die stickstoffreichen Basen nicht, die aus dem Kern-Nuclein stets entstehen. Durch diesen Befund wird das Nuclein des Dotters als eine Substanz characterisirt, welche dem aus der Milch entstehenden Nuclein sehr ähnlich ist, denn auch aus diesem werden Guanin, Hypoxanthin u. s. w. nicht erhalten. Die Zusammengehörigkeit dieser beiden Nucleine, die beide als Nahrung für einen wachsenden Organismus dienen, wird ferner durch ihren Eisengehalt dargethan.

Da dem Nuclein des Dotters jene Atomcomplexe fehlen, welche für das echte Kern-Nuclein characteristisch sind, so muss man annehmen, dass in dem Masse, wie die Zellkerne gebildet werden, auch eine Bildung oder Anfügung dieser stickstoffreichen Atomgruppe stattfindet. Der folgende Versuch zeigt, dass dies in der That der Fall ist.

Ebensowenig wie aus dem isolirten Dotternuclein, gelang es mir, aus dem gesammten Dotter des unbebrüteten Hühnereis die genannten stickstoffreichen Basen zu erhalten. Es wurden nun eine Anzahl Hühnereier durch 15tägige Bebrütung zur Entwicklung gebracht und aus sieben derselben

die Embryonen herausgenommen. Das Gewicht der Embryonen betrug 30 gr. und entsprach 2,967 gr. Trockensubstanz. Dieselben wurden mit verdünnter Schwefelsäure gekocht und in der bekannten Weise auf die Basen untersucht. Es fanden sich 0,0084 gr. Guanin und 0,0195 gr. Hypoxanthin (vielleicht auch Adenin). Auf trockne Substanz bezogen, ergeben diese Zahlen 0,28 % Guanin und 0,66 % Hypoxanthin!

Dass während der Entwicklung der Embryonen eine Neubildung der stickstoffreichen Basen stattfindet, geht ferner aus den im hiesigen Laboratorium angestellten Untersuchungen Tichomiroff's<sup>1)</sup> hervor. Tichomiroff fand, dass die Menge des Guanins, Hypoxanthins u. s. w. während der Bebrütung der Eier von *Bombyx mori* beträchtlich zunimmt. Beide Thatsachen müssen mit der Entstehung der Zellkerne in Zusammenhang gebracht werden.

Die Eigenthümlichkeiten der Nucleïne rechtfertigen es, dass man sie im chemischen System als eine Gruppe zusammenstellt; aber innerhalb dieser Gruppe sind zwei chemisch und physiologisch verschiedene Abtheilungen zu unterscheiden: das Nuclein des Zellkerns, welches die stickstoffreichen Basen enthält, das Nuclein des Dotters und der Milch, dem sie fehlen.

## II. Ueber das Adenin<sup>2)</sup>.

Bei der Verarbeitung einer grösseren Menge von Pankreasdrüsen auf Hypoxanthin und Guanin fand ich neben diesen Substanzen eine bisher unbekannt Base, welche ich später als Spaltungsprodukt des Nucleins erkannte und für die ich den Namen «Adenin»<sup>3)</sup> vorschlage.

### Darstellung des Adenins.

Herr Dr. Bannow hatte die Güte in der Fabrik von C. A. F. Kahlbaum eine sehr beträchtliche Quantität von

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift Bd. IX, S. 518.

<sup>2)</sup> Vorläufige Mittheilung in den Berichten der deutschen chemischen Gesellschaft. Jahrgang 18, S. 79 und 1928.

<sup>3)</sup> Von *αδίν*, Drüse.

Pankreasdrüsen des Rindes in folgender Weise verarbeiten zu lassen. 75 Pfund zerhackte Pankreasdrüse wurden mit 200 Litern einer verdünnten Schwefelsäure, welche in je 100 Theilen 0,5 Volumtheile conc. Schwefelsäure enthielt, 3 bis 4 Stunden im Sieden erhalten, die Schwefelsäure sodann mit heissem, concentrirten Barytwasser unter Vermeidung eines Ueberschusses vollständig entfernt, die Flüssigkeit filtrirt. Das eingedampfte Filtrat erhielt ich zur weiteren Verarbeitung. Dasselbe wurde zunächst in der bekannten Weise mit ammoniakalischer Silberlösung ausgefällt. Den entstehenden, sehr voluminösen Niederschlag befreite ich durch Aufstreichen auf poröse Thonplatten von der grösseren Menge des Wassers, wodurch die folgende Operation bedeutend erleichtert wird. Man löst ihn unter Zusatz von wenig Harnstoff in Salpetersäure vom spec. Gewicht 1,1 und erwärmt die Lösung auf dem Wasserbade. Hierbei geht das Adenin mit dem Guanin u. s. w. in Lösung, beim Erkalten der filtrirten salpetersauren Lösung fällt es zugleich mit dem Guanin und Hypoxanthin als Silberdoppelsalz aus. Die ausgeschiedenen weissen Silberverbindungen werden auf dem Filter gesammelt, ausgewaschen und mit Schwefelwasserstoff unter Druck zersetzt.

Man filtrirt vom Schwefelsilber ab, dampft das Filtrat ein und versetzt die rückständige Flüssigkeit mit einem nicht zu grossen Ueberschuss von Ammoniak. Dieselbe bleibt 24 Stunden im Becherglas offen stehn, so dass ein Theil des Ammoniaks verdunstet. Es scheidet sich das Guanin und die Hauptmenge des Adenins aus, während das Hypoxanthin und ein kleiner Theil des Adenins in Lösung bleibt. Dieser Theil fällt zuweilen nach längerem Stehn der Flüssigkeit aus, zur vollständigen Gewinnung der letzten Antheile ist es nöthig, die ammoniakalische Lösung einzudampfen und den Rückstand mit verdünntem Ammoniak zu extrahiren, welcher das Hypoxanthin aufnimmt, das Adenin zum grössten Theil ungelöst lässt.

Die durch Ammoniak erhaltenen Niederschläge wurden in verdünnter Salzsäure unter Erwärmen gelöst. Beim Er-

kalten krystallisirten zunächst die langen radial gestellten Nadeln des salzsauren Guanins aus, dieselben wurden abfiltrirt. Beim weiteren Eindampfen des Filtrats erschienen knollige Appregate aus kürzeren und dickeren, mit Endflächen versehenen Nadeln zusammengesetzt, dieselben bestehn aus salzsaurem Adenin. Sie wurden mechanisch von den letzten Antheilen des salzsauren Guanins befreit. Das salzsaure Salz wurde mehrmals umkrystallisirt, dann durch Fällung mit Ammoniak die freie Base dargestellt. Dieselbe wurde noch weiter gereinigt durch Ueberführung in das schwer lösliche schwefelsaure Salz, welches aus Wasser umkrystallisirt und aus dessen Lösung die Base durch Ammoniak gefällt wurde.

Später fand ich es zweckmässiger, die Abtrennung des Guanins in folgender Weise vorzunehmen. Man digerirt das eingedampfte und mit Ammoniak übersättigte Filtrat des Schwefelwasserstoff-Niederschlags auf dem Wasserbade. Hierbei geht Adenin und Hypoxanthin völlig in Lösung, während das Guanin ungelöst bleibt. Beim Abkühlen (eventuell nach weiterem Verdunsten der ammoniakalischen Lösung) scheidet sich zunächst das Adenin aus.

#### Eigenschaften und Zusammensetzung des Adenins.

Bei schneller Abscheidung, zumal aus warmen oder unreinen Lösungen, zeigt sich die Base amorph oder in sehr kleinen, nur mikroskopisch sichtbaren Krystallen, aus verdünnter, kalter Lösung erhält man lange nadelförmige Krystalle, die zuweilen das ganze Gefäss durchsetzen. Dieselben zeigen nach gütiger Mittheilung des Herrn Dr. Robert Scheibe folgende Eigenschaften:

«Die gewöhnlich 1 mm. breiten, kaum  $\frac{1}{4}$  mm. dicken und über 100 mm. langen Säulen, in denen das Adenin auftritt, scheinen einen rhombischen Querschnitt zu haben. Aber bei genauer Betrachtung zeigt sich, dass die Säulen sechseckig sind mit zwei breiten (a und a'), zwei mittleren

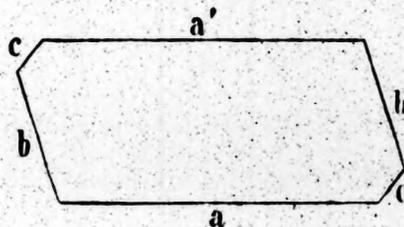
(b und b') und zwei schmalen (c und c') Seitenflächen. Die Winkel unter denen die Flächen aufeinanderstossen sind im Mittel:

$$a : b = a' : b' = 127^{\circ} 45'$$

$$b : c = b' : c' = 135^{\circ} 8'$$

$$c : a' = c' : a = 97^{\circ} 8'$$

Auf den breiten Säulenflächen a und a' liegt das Maximum der Anlöschung des polarisirten Lichts parallel der Säulenkante. Da Endflächen, welche die Säulen oben oder unten abschliessen, noch nicht nachzuweisen waren, ist eine Angabe über das Krystallsystem zur Zeit noch nicht möglich.»



Die Krystalle werden schon beim Liegen an der Luft bald undurchsichtig, schneller beim Erwärmen. Bringt man einige Krystalle in eine zur Lösung ungenügende Menge Wasser und erhitzt langsam, so sieht man bei  $53^{\circ}$  plötzlich eine Trübung der Krystalle eintreten. Dieses eigenthümliche Verhalten kann zur Erkennung krystallisirten Adenins benutzt werden. Uebergiesst man die Krystalle mit Säuren, so werden sie sofort undurchsichtig.

Zu den folgenden Analysen wurde theils amorphe, theils krystallisirte bei  $110^{\circ}$  getrocknete Substanz benutzt.

1. 0,2593 gr. Substanz geben 0,4197 gr.  $\text{CO}_2$  und 0,0937  $\text{H}_2\text{O}$ .
2. 0,2057 gr. Substanz geben 0,3290 gr.  $\text{CO}_2$  und 0,0760  $\text{H}_2\text{O}$ .
3. 0,1895 gr. Substanz geben 0,3045 gr.  $\text{CO}_2$  und 0,0750  $\text{H}_2\text{O}$ .
4. 0,2013 gr. Substanz geben 0,3259 gr.  $\text{CO}_2$  und 0,0739  $\text{H}_2\text{O}$ .
5. 0,2143 gr. Substanz geben 0,3434 gr.  $\text{CO}_2$  und 0,0777  $\text{H}_2\text{O}$ .
6. 0,1524 gr. Substanz geben 62,60 ccm. N (reduc. Volum.).
7. 0,1029 gr. Substanz geben 42,33 ccm. N (reducirtes Volumen).
8. 0,1100 gr. Substanz geben 45,3 ccm. N (reducirtes Volumen).

	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.
C	44,14	43,62	43,82	44,15	43,70	—	—	—
H	4,01	4,10	4,40	4,08	4,03	—	—	—
N	—	—	—	—	—	51,62	51,65	51,75

	Berechnet für C H N:	Berechnet für C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> N <sub>10</sub> :
C	44,44	44,12
H	3,71	4,40
N	51,85	51,50

Die Substanz zeigt nach diesen Analysen dieselbe procentische Zusammensetzung, wie die Blausäure. Aus den Bestimmungen des Krystallwassers, aus den Analysen der Salze, sowie aus der Umwandlung in Hypoxanthin (vergl. unten) entnehme ich die Formel C<sub>5</sub> H<sub>5</sub> N<sub>5</sub>. Die Formel C<sub>10</sub> H<sub>12</sub> N<sub>10</sub> ergiebt einen zu hohen Wasserstoffgehalt.

Beim Erhitzen auf 110° erleiden die Krystalle einen Gewichtsverlust, der 3 Molekülen Krystallwasser entspricht.

1. 0,8775 gr. krystall. Adenin bei 110° getr. geben 0,6302 gr. Rückstand.
2. 0,8957 gr. krystall. Adenin geben 0,6382 gr. Rückstand.
3. 1,7042 gr. krystall. Adenin bei 110° getr. geben 1,2202 gr. Rückstand.

Gefunden:			Berechnet für
I.	II.	III.	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N <sub>5</sub> + 3 H <sub>2</sub> O:
28,2%	28,7%	28,4%	28,57%

Das Adenin ist in heissem Wasser leicht, in kaltem schwer löslich und scheidet sich beim Erkalten der Lösung krystallisirt aus. Es löst sich bei Zimmertemperatur in 1086 Theilen Wasser. Die wässerige Lösung reagirt neutral. Es ist unlöslich in Aether, Chloroform, löslich in Eisessig, etwas löslich in heissem Alkohol. In unreinem Zustand ist es auch in kaltem Alkohol löslich. In Mineralsäuren löst es sich leicht und bildet gut krystallisirende Salze, es löst sich in wässriger Essigsäure schon in der Kälte. Von Kali- und Natronlauge wird es mit Leichtigkeit gelöst, beim Neutralisiren fällt es wieder aus. In wässrigem Ammoniak ist es leichter löslich als Guanin, doch schwerer löslich als Hypoxanthin. Digerirt man das Adenin mit sehr verdünnter Ammoniaklösung auf dem Wasserbade, so geht es völlig in Lösung; dies Verhalten ist, wie bereits erwähnt, zur Trennung von Guanin zu be-

nutzen. In kohlen-saurem Natron ist es nur wenig löslich, fällt jedoch beim Uebersättigen der sauren Lösung mit kohlen-saurem Natron nur sehr langsam (zuweilen nach 48 Stunden) aus.

Das Adenin kann bis  $278^{\circ}$  erhitzt werden, ohne zu schmelzen. Bei dieser Temperatur tritt eine schwache Gelbfärbung ein, zugleich bildet sich ein weisses Sublimat. Erhitzt man höher, so kann man fast die ganze Masse sublimiren, das Sublimat ist in heissem Wasser löslich und wird durch ammoniakalische Silberlösung gallertig gefällt. Dampft man Adenin mit verdünnter oder rauchender Salpetersäure auf dem Wasserbad ein, so bleibt ein weisser Rückstand, der mit Natronlauge keinerlei Färbung ergiebt. Eben-sowenig giebt das Adenin die Reaktion, welche Weidel für das Hypoxanthin angegeben hat, die aber, wie ich bereits früher <sup>1)</sup> dargethan habe, nicht dem Hypoxanthin, sondern dem Xanthin zugehört.

### Verbindungen des Adenins.

Das Adenin bildet Verbindungen mit Basen, Säuren und Salzen. Die Salze des Adenins mit Schwefelsäure und Salzsäure können aus Wasser umkrystallisirt werden, ohne, wie die entsprechenden Salze des Guanins und Hypoxanthins, ihre Säure sofort zu verlieren. Indess reagirt die Lösung dieser Salze sauer.

Schwefelsaures Adenin. Dasselbe, durch Auflösen der freien Base in verdünnter Schwefelsäure erhalten, wurde aus wässriger Lösung in zwei verschiedenen Formen krystallisirt erhalten. Die Beschreibung der Krystalle wird in einer späteren Abhandlung folgen.

Die Analyse der bei  $110^{\circ}$  getrockneten Krystalle ergab Folgendes:

1. 0,2291 gr. Substanz geben 0,2710 gr.  $\text{CO}_2$  und 0,0717 gr.  $\text{H}_2\text{O}$ .
2. 0,1133 gr. Substanz geben 36,9 ccm.  $\text{N}_2$  bei  $16,5^{\circ}$  und 761 mm. Bar.
3. 0,4122 gr. Substanz geben 0,2606 gr.  $\text{BaSO}_4$ .
4. 0,2525 gr. Substanz geben 0,1602 gr.  $\text{BaSO}_4$ .

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 6, S. 426.

	Gefunden:				Berechnet für (C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> :
	I.	II.	III.	IV.	
C	32,26	—	—	—	32,61
H	3,48	—	—	—	3,26
N	—	38,14	—	—	38,04
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	—	—	26,60	26,70	26,60.

Für den Gehalt an Krystallwasser ergaben sich folgende Zahlen:

1. 0,4523 gr. Substanz bei 110° getrocknet hinterliess 0,4145 gr. Rückstand.
2. 0,2808 gr. Substanz bei 110—115° getrocknet gab 0,2553 gr. Rückstand.

	Gefunden:		Berechnet für: (C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 2 H <sub>2</sub> O:
	I.	II.	
	8,4	9,10	8,9.

Das schwefelsaure Salz löst sich leicht in heissem Wasser und krystallisirt bei genügender Sättigung nach dem Erkalten aus. Bei Zimmertemperatur löst sich ein Theil Adeninsulfat in 153 Theilen Wasser.

Das salzsaure Adenin wird beim Eindampfen der Lösung des Adenins in Salzsäure in farblosen, stark lichtbrechenden Krystallen erhalten.

Das salpetersaure Salz krystallisirt in sternförmig gruppirten Nadeln aus der wässerigen Lösung. In unreinem Zustand zeigte es die Neigung, grosse knollige Aggregate zu bilden.

Beachtenswerth sind die Eigenschaften des oxalsauren Salzes. Löst man Adenin in heisser, verdünnter, wässriger Oxalsäure, so scheidet sich beim Erkalten das schwer lösliche Oxalat in voluminösen rundlichen Massen ab, die aus langen, feinen Nadeln zusammengesetzt sind. Aus verdünnten Lösungen erfolgt diese Abscheidung bisweilen erst nach 8 bis 14 Tagen. Die oxalsauren Salze des Guanins, Xanthins und Hypoxanthins sind leichter löslich, als das des Adenins, und haben ein anderes Aussehen. Die beschriebene Verbindung kann somit zur Erkennung des Adenins benutzt werden. Die Analysen verschiedener Präparate des Adeninoxalats gaben keine Ueber-

einstimmung unter einander, demnach ist anzunehmen, dass die Zusammensetzung der ausgeschiedenen Verbindung wechselt. In einem Falle fand ich 28,9% N, ein Stickstoffgehalt, welcher der Formel  $C_5H_5N_5$ ,  $C_2H_2O_4 + H_2O$  entspricht (berechnet: 28,8% N).

Mit Pikrinsäure bildet Adenin eine leicht lösliche Verbindung. Die wässrige Lösung des Adenins giebt mit Barytwasser einen Niederschlag. Alkoholische Chlorzinklösung ruft in Lösungen des Adenins einen Niederschlag hervor, der sich auf Zusatz eines Ueberschusses von Ammoniak leicht auflöst. Mit Quecksilberchlorid bildet Adenin einen Niederschlag, welcher sich auch in heissem Wasser nicht auflöst, aber in Salzsäure leicht löslich ist. Quecksilbernitrat fällt das Adenin aus seinen Lösungen heraus. Basisches Bleiacetat erzeugt keinen Niederschlag. Cadmiumchlorid ruft einen Niederschlag hervor, der sich beim Erwärmen auflöst und beim Erkalten der Lösung wiedererscheint. Derselbe ist in Ammoniak leicht löslich. Besonders wichtig sind die Verbindungen des Adenins mit Silber, die in Wasser und wässrigem Ammoniak sehr wenig löslich sind. Eine solche Verbindung entsteht als voluminöser, gallertiger Niederschlag, wenn man eine ammoniakalische Lösung des Adenins in der Kälte mit ammoniakalischer Silberlösung fällt; nimmt man diese Fällung in heisser Lösung vor, so ist der Niederschlag nicht voluminös und lässt sich gut auswaschen. Heiss gefällt zeigt derselbe folgende Zusammensetzung:

1. 0,4658 gr. Substanz geben 0,2083 gr. metallisches Silber.
2. 0,1742 gr Substanz geben 42,7 cbcm. N bei 19,4° und 762,5 mm. Barometerstand.

	Gefunden:	Berechnet für $C_5H_4N_5Ag$ :
Ag	44,7      —	44,6
N	—      28,2	28,9.

Nach der Untersuchung der in der Kälte bereiteten Silberverbindung des Adenins vermuthe ich, dass derselben eine Formel zukommt, welche der entsprechenden Verbindung

des Hypoxanthins analog ist, dass diese Verbindung von Adenin mit Silberoxyd sich in der Kälte langsam, in der Hitze sofort umsetzt, indem Silberoxyd und Wasser frei werden und Ag an Stelle von H in das Molekül eintritt. Die Analyse der in der Kälte bereiteten Verbindung ergab 56,2 % Ag, die Formel  $C_5H_5N_5, Ag_2O$  verlangt 58,9 %.

Eine andere Verbindung des Adenins mit Silber entsteht in ähnlicher Weise wie beim Hypoxanthin und Guanin, wenn man das eben beschriebene Adeninsilber in heisser Salpetersäure löst. Es scheiden sich beim Erkalten der Lösung nadelförmige Krystalle aus, deren Länge 2 Millimeter erreicht. Die Krystalle verändern ihre Zusammensetzung leicht, anscheinend unter Verlust von Salpetersäure. Wäscht man sie mit Wasser aus und erhitzt sie dann im Trockenschrank längere Zeit bei 100°, so findet man keine übereinstimmenden Zahlen für den Silbergehalt, und zwar mehr Silber, als der Formel  $C_5H_5N_5, AgNO_3$  entspricht (z. B. 42,0%, 38,8% Ag). Einen viel niedrigeren Silbergehalt fand ich in solchen Krystallen, welche mit Salpetersäure ausgewaschen und bei gewöhnlicher Temperatur im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet waren. Dieselben enthielten 27,99 % Ag.

Fügt man zu einer verdünnten wässerigen Lösung des salzsauren Adenins eine Lösung von Platinchlorid, so entsteht das krystallische gelbe Platinchlorhydrat.

### Bildung von Hypoxanthin aus Adenin.

Die Hauptmenge des zu Gebote stehenden Materials wurde dazu benutzt, die Einwirkung der salpetrigen Säure auf Adenin zu studiren.

3,45 gr. Adenin <sup>1)</sup> wurden in 100 ccm. Wasser, welches 7 gr. concentrirter Schwefelsäure enthielt, gelöst und zu der auf dem Wasserbade erwärmten Lösung langsam und unter fortwährendem Umschütteln ungefähr 6 gr. salpetrigsaures

<sup>1)</sup> Das zu diesem Versuch benutzte Präparat war durch eine Stickstoffbestimmung als rein erkannt.

Kali<sup>1)</sup>, welches in Wasser gelöst war, hinzugefügt. Dann wurde die Lösung zum Sieden erhitzt und eine kurze Zeit im Sieden erhalten. Die Lösung wurde mit Ammoniak übersättigt und mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt, der Niederschlag aus heisser Salpetersäure umkrystallisirt, die ausgeschiedenen Silberverbindungen mit Schwefelwasserstoff zerlegt, die vom Schwefelsilber abfiltrirte Flüssigkeit eingedampft. Es schied sich zunächst eine schwer lösliche, undeutlich krystallisirte, sehr schwach gelbliche Substanz aus, die nach mehrmaligem Umkrystallisiren eine rein weisse Farbe erhielt. Bei weiterem Einengen begann an den Rändern die Ausscheidung eines an der Luft sich roth färbenden Körpers und zuletzt krystallisirten aus der Flüssigkeit zierliche Nadeln, die anscheinend aus unzersetztem salpetersauren Adenin bestanden.

Die zuerst abgeschiedene Substanz erwies sich durch ihre Eigenschaften und ihre Zusammensetzung als Hypoxanthin. Die Analyse ergab:

1. 0,2150 gr. Substanz gaben 0,3437 gr. CO<sub>2</sub> und 0,0669 gr. H<sub>2</sub>O.
2. 0,1265 gr. Substanz gaben 46,6 cbcm. N bei 24,1° und 759,5 mm. Barometerstand.

	Gefunden:	Berechnet für C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> N <sub>4</sub> O:
C	43,60	44,11
H	3,46	2,99
N	—      41,2	41,2.

Die Ausbeute an Hypoxanthin betrug ungefähr 2,5 gr.

Ein zweiter Versuch wurde in analoger Weise mit 1,6 gr. Adenin angestellt. Hierbei erhielt ich 0,74 gr. Hypoxanthin, welches durch eine Stickstoffbestimmung als solches erkannt wurde.

0,1122 gr. Substanz gaben 38,8 cbcm. N bei 17,8° und 780 mm. Bar.

Gefunden:	Berechnet:
41,1% N	41,2% N.

Die Bildung des Hypoxanthins aus Adenin findet eine Analogie in der von Strecker im Jahre 1858 gefundenen

<sup>1)</sup> Dasselbe enthielt 93% Kaliumnitrit.

Umwandlung des Guanins in Xanthin durch salpetrige Säure<sup>1)</sup>. Bei diesem Process ist bekanntlich ein Ueberschuss salpetriger Säure sorgfältig zu vermeiden, da sehr leicht eine Bildung von Nitroproducten stattfindet, die nach Strecker erst durch Reduction mit Eisenoxydul zersetzt werden müssen. Erst E. Fischer hat in neuerer Zeit die Bedingungen genauer präcisirt, unter denen eine quantitative Umwandlung des Guanins in Xanthin erfolgt<sup>2)</sup>. Bei der von mir ausgeführten Reaction ist ein Ueberschuss salpetriger Säure sogar nothwendig<sup>3)</sup>, eine Bildung von Nitroproducten habe ich nicht bemerkt. Ebenso wenig konnte ich Xanthin unter den Zersetzungsproducten nachweisen.

Um eine Aufklärung über die Constitution des Adenins zu erhalten, wird man zunächst versuchen müssen, die Einwirkung einer Reihe von Oxydations- und Spaltungsmitteln zu studiren; ich bin mit dieser Untersuchung beschäftigt.

Die Analogie des Adenins geht aus folgender Zusammenstellung hervor:



1) Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 108; N. F., Bd. 32, S. 141.

2) Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 215, S. 309.

3) Die ersten Versuche, in denen ich annähernd die berechnete Menge salpetersaures Kali einwirken liess, führten nicht zu einem Resultat, weil eine beträchtliche Menge Adenin unzersetzt blieb. Freilich arbeitete ich mit geringeren Substanz-Mengen und versuchte zur Trennung von Hypoxanthin und unzersetztem Adenin die verschiedene Löslichkeit in Ammoniak zu benutzen. Die gewonnenen in Ammoniak leicht löslichen Substanzen bestanden nachweislich aus einer Mischung von Adenin und Hypoxanthin, bei weiterer Reinigung sank der Stickstoffgehalt zwar von 44,3% auf 42,6 und 42,4%, indess reines Hypoxanthin (41,2% N) erhielt ich nicht. In dem später benutzten Verfahren beruht die Trennung des Hypoxanthins von den geringen Mengen des unzersetzten Adenins darauf, dass Hypoxanthin aus der eingedampften wässrigen Lösung zuerst ausgeschieden wird, weil salpetersaures Hypoxanthin durch Wasser zersetzt wird, während das Adenin als stärkere Base mit der Salpetersäure verbunden und als Salz gelöst bleibt.

Der Uebergang des stickstoffreicheren Körpers in den stickstoffärmeren beruht in beiden Fällen darauf, dass eine NH-Gruppe durch O ersetzt wird. Bei der Bildung des Xanthins aus Guanin geht ein Guanidinrest in einen Harnstoffrest über.

Der Zusammenhang des Adenins mit den Cyanverbindungen wird nicht allein durch die Formel angezeigt, welche für das Adenin dieselbe procentische Zusammensetzung ergibt, wie für Blausäure, sondern auch dadurch, dass das Adenin leicht in Blausäure übergeht. Wenn man Adenin mit Kalihydrat im Oelbad auf 200° erhitzt, so bildet sich eine reichliche Menge Cyankalium, während eine grosse Zahl stickstoffhaltiger Verbindungen unter diesen Verhältnissen nur geringe Spuren oder gar keine Blausäure liefern <sup>1)</sup>.

#### Bildung des Adenins aus Nucleïn.

Die Verwandtschaft des Adenins mit dem Hypoxanthin machte es wahrscheinlich, dass das Adenin ebenfalls bei der Zersetzung des Nucleïns entstehe und als Zwischenproduct bei der Bildung des Hypoxanthins aus Nucleïn auftrete. Um diese Vermuthung zu bestätigen, wurden 60 gr. Nucleïn in bekannter Weise durch Extraction von Presshefe mit verdünnter Natronlauge und Fällung des Filtrats mit Salzsäure dargestellt. Das Nucleïn wurde sodann mit 500 cbcm. Wasser, welches 2,5 cbcm. concentrirter Schwefelsäure enthält, erhitzt und der gelöste Theil in der oben beschriebenen Weise auf Adenin verarbeitet. Verluste waren bei dieser Darstellung unumgänglich, die Ausbeute betrug 0,3123 gr. d. i. 0,52 % des lufttrockenen Nucleïns. Eine Stickstoffbestimmung ergab:

0,1015 gr. Substanz gab 46,7 cbcm. Stickstoff bei 20,6° und 754 mm. Barometerstand.

Gefunden:

51,99

Berechnet:

51,85.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 6, S. 429.

## Physiologische Beziehungen des Adenins.

Die Entstehung des Adenins aus Nuclein führt zu der Schlussfolgerung, dass diese Base in jeder entwicklungsfähigen Zelle enthalten sei. Ich habe dieselbe aus verschiedenen zellenreichen Thier- und Pflanzengeweben dargestellt. Auch in höheren Pflanzen konnte ich das Vorkommen des Adenins nachweisen. Ich verarbeitete eine grössere Quantität des Extractes von Theeblättern, welches ich der Freundlichkeit des Herrn Dr. Fr. Witte in Rostock verdanke. Dasselbe wurde zunächst durch Bleiessig gefällt, das Filtrat von dem reichlich entstehenden Niederschlage durch Schwefelsäure vom Ueberschuss des Bleis befreit, mit Ammoniak alkalisch gemacht und mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt. Im Uebrigen war die Darstellung der oben beschriebenen gleich.

Die Analyse ergab Folgendes:

1. 0,2078 gr. Substanz gaben 0,3347 gr.  $\text{CO}_2$  und 0,0800  $\text{H}_2\text{O}$ .
2. 0,1015 gr. Substanz gaben 46,2 cbcm. N bei  $18,4^\circ$  und 747,5 mm. Bar.

	Gefunden:	Berechnet für $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_5$ :
C	43,93	44,44
H	4,28	3,71
N	51,62	51,85.

Man könnte vielleicht zu der Vermuthung gelangen, dass das Adenin in den zur Analyse verwandten Extracten nicht in Form eines präformirten Bestandtheils enthalten sei, sondern dass es erst bei der Darstellung, insbesondere durch die Einwirkung der siedenden Salpetersäure aus einem noch unbekanntem Stoff, etwa einem primären Spaltungsproduct des Nucleins entstehe. Für das Thee-Extract muss ich diese Vermuthung zurückweisen, denn es gelang mir, aus diesem Rohmaterial die Base auch ohne Anwendung der Salpetersäure zu isoliren. Es wurde eine beträchtliche Menge des durch Alkohol gewonnenen Extracts mit Bleiessig ausgefällt, und das vom Blei befreite Filtrat mit Quecksilberchlorid gefällt. Es entstand ein reichlicher Niederschlag, der, mit Schwefelwasserstoff zersetzt, eine bereits ziemlich reine Krystallisation

des salzsauren Adenins lieferte. Die Base wurde aus diesem Salz isolirt und gab bei der Verbrennung folgende Zahlen:

0,1027 gr. Substanz gaben 46,9 cbcm. N bei 21,0° und 755 mm. Bar.

Gefunden:

51,63

Berechnet:

51,85.

Im Fleischextract findet sich das Adenin entweder gar nicht oder nur in geringer Menge. Wie ich früher nachgewiesen habe<sup>1)</sup>, ist auch das Guanin im Fleischextract nur in Spuren enthalten. Man muss die Thatsache dadurch erklären, dass das Muskelgewebe sehr arm an Zellkernen und an Nuclein ist. Ebenso wie die Muskelzelle die morphologischen Eigenthümlichkeiten einer Zelle zum Theil eingebüsst hat, so hat sie auch die chemischen verloren. In denjenigen Geweben, deren Zellen ihre ursprüngliche Beschaffenheit bewahrt haben, findet man Hypoxanthin und Xanthin nicht als Individuen, sondern in Vereinigung mit andern Atomgruppen, insbesondere mit Phosphorsäure und Eiweiss als Theile einer höheren Verbindung, des Nucleins. In den Muskeln finden wir zwar die Zersetzungsprodukte des Nucleins wieder, aber die chemische Verbindung zwischen denselben ist gelöst. Die Phosphorsäure ist nicht in organischer Verbindung, sondern als Salz vorhanden, ebenso sind Hypoxanthin und Xanthin in freiem Zustande da, durch Wasser extrahirbar. Man könnte versucht sein, das Wort «Differenzirung», welches heute nur eine morphologische Veränderung bedeutet, hier auf die chemischen Verhältnisse zu übertragen.

Bei der Zersetzung der Organe mit verdünnten Säuren erhält man niemals Adenin oder Guanin allein, sondern daneben stets Hypoxanthin und eine oft geringe Quantität Xanthin. Aus der Milz z. B. erhielt ich Hypoxanthin neben dem Adenin in genügender Reinheit, um es analysiren zu können.

0,1172 gr. Substanzen gaben 42,3 cbcm. N bei 15,9° und 753,0 mm. Bar.

Gefunden:

41,7

Berechnet für  $C_5H_4N_4O$ :

41,2.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift Bd. 8, S. 404.

In den meisten der früher von mir mitgetheilten quantitativen Untersuchungen über die stickstoffreichen Basen dürfte das Adenin als Hypoxanthin bestimmt sein, eine Erneuerung dieser Untersuchungen ist nothwendig. Die von mir angeführten Eigenschaften des Adenins geben die Möglichkeit einer quantitativen Trennung dieser Base von Hypoxanthin, Guanin und Xanthin auf verschiedenen Wegen. Die Auffindung einer geeigneten Methode wird ein Ziel meiner weiteren Untersuchungen sein.

Der Erforschung der quantitativen Verhältnisse der vier stickstoffreichen Basen, der Abhängigkeit ihrer Menge von den physiologischen Zuständen der Zelle, verspricht wichtige Aufschlüsse über die elementaren physiologisch-chemischen Vorgänge. Es zeigt sich in diesen Körpern eine eigenthümliche Zusammenfügung von C, H und N, wie wir sie in den Eiweisskörpern nicht kennen. Die Umwandlung von Adenin und Guanin in Hypoxanthin und Xanthin unter Abspaltung von NH und Eintritt von O geht auch in den Geweben, vielleicht in jedem Zellkern vor sich. Diese Umwandlung ist auch wegen der Frage nach der Wanderung der Amidgruppe vom Eiweiss zum Harnstoff sehr beachtenswerth.

Die Existenz von Cyanverbindungen im Thierkörper ist mehrfach nach theoretischen Erwägungen vermuthet worden. Durch die Auffindung des Adenins, eines Polymeren der Blausäure, gewinnen diese Vermuthungen eine thatsächliche Grundlage, zugleich ist der Zellkern als Sitz dieser Cyanverbindungen erkannt.