

Bemerkungen über künstlich dargestellte Eiweissnucleine.

Von

Dr. Julius Pohl,

Assistenten des pharmakologischen Instituts zu Prag.

(Der Redaction zugegangen am 10. October 1888.)

Laut einer Mittheilung Leo Liebermann's¹⁾ «über das Nuclein der Hefe und künstliche Darstellung eines Nucleins aus Eiweiss und Metaphosphorsäure» stimmt der aus Eiweisslösungen mit Metaphosphorsäure fällbare Eiweisskörper in den wichtigsten Eigenschaften mit natürlichen Nucleinen überein. Unlöslich in Säuren, löst er sich in Alkalien; in saurer Lösung ist er von Magensaft nicht verdaulich, beim Uebergiessen mit verdünnter Säure gibt er Metaphosphorsäure an dieselbe ab; ferner liefert er eine schwer verbrennliche, sauer reagirende Kohle und enthält Phosphor von 2,58—2,67%.

Wenn auch durch die Mittheilung Liebermann's die wichtigsten Eigenthümlichkeiten jener Verbindung festgestellt sind, so glaube ich mich doch berechtigt, einige Beobachtungen mittheilen zu dürfen, welche bereits vor Erscheinen des Liebermann'schen Aufsatzes gewonnen waren und zur Bestätigung und Ergänzung derselben dienen dürften. Liebermann's künstliches Nuclein war aus Eiereiweiss dargestellt. Da dieses ein Gemenge von mindestens zwei Eiweisskörpern, Globulin und Albumin, darstellt, diese beiden Körper aber durch Metaphosphorsäure gefällt werden, so

¹⁾ Ber. d. d. chem. Ges., Jahrg. 21, 1888, S. 598.

muss Liebermann's Präparat ein Gemenge von Globulinnuclein mit Albuminnuclein dargestellt haben, dessen Eigenschaften und Phosphorgehalt nicht ohne Weiteres auf einen einheitlichen chemischen Körper zu beziehen sind. Meine Versuche habe ich mit globulinfreiem Serumalbumin, sodann mit Fibrinhemialbumose angestellt.

I. Serumalbuminnuclein.

Käufliches Blutalbumin wurde zur Ausfällung des Globulins mit Magnesiumsulfat gesättigt und filtrirt. Das klare Filtrat wurde mehr als dreissigfach verdünnt, mit einer gesättigten Lösung von Natriummetaphosphat, sodann mit verdünnter Salzsäure versetzt, der entstandene Niederschlag auf's Filter gebracht, schwefelsäurefrei gewaschen, dann in Alkali gelöst und in verdünnte Salzsäure filtrirt. Von dem neuerlich ausfallenden Eiweisskörper wurde die darüber stehende saure Flüssigkeit so rasch als möglich abgegossen, der Niederschlag selbst durch Decantation und Waschen auf dem Filter chlorfrei erhalten und schliesslich mit Alkohol und Aether gewaschen. Dieser Eiweisskörper zeigt neben den allgemeinen Eiweissreactionen noch die bereits von Liebermann hervorgehobenen Eigenschaften, die ihn als Nuclein charakterisiren. Beachtenswerth ist sein Verhalten gegen Salze. Concentrirte Lösungen mancher Salze einbasischer und zweibasischer Säuren lösen ihn, so z. B. Chlornatrium, Chlorammonium, Kaliumnitrat, Natriumsulfat, Natriumphosphat. In mit Magnesiumsulfat gesättigten Albuminlösungen erzielt daher Metaphosphorsäure gar keinen Niederschlag. Ammonsulfat in gesättigter Lösung hält jedoch kein Albuminnuclein in Lösung. Ich hebe hervor, dass diese Angaben durchaus nicht für alle Eiweissnucleine gelten; so ist z. B. Eierglobulinnuclein in gesättigter Magnesiumsulfatlösung unlöslich. Möglicherweise lässt sich dieses Verhalten gegenüber Salzen zur Trennung der verschiedenen Nucleine benützen.

Zur Bestimmung des Phosphorsäure-Gehaltes wurde das bei 100° C. zur Gewichtskonstanz getrocknete Albuminnuclein nach Liebig verascht, die Phosphorsäure mit Molybdän-

salpetersäure gefällt und schliesslich als Magnesiumpyrophosphat gewogen.

Analysen.

I. 1,4821 gr. Albuminnuclein	gaben 0,2940 gr. $Mg_2P_2O_7$	= 5,54% P.
II. 1,7112	0,3373	= 5,50
III. 1,2529	0,2547	= 5,67
IV. 1,9862	0,4046	= 5,69

Um zu erfahren, ob die hier erhaltenen Phosphorwerthe der Ausdruck einer constanten chemischen Beziehung zwischen Eiweissmolekül und der Säure sind, habe ich $\frac{1}{2}$ Jahr nach obigen Analysen neuerdings Serumalbuminnuclein dargestellt, jedoch mit dem Unterschied, dass dasselbe nicht der wiederholten Einwirkung von Säure und Alkali ausgesetzt wurde. Dieses Präparat wurde zur Analyse V verwendet.

V. 1,8650 gr. Albuminnuclein ergeben 0,3692 gr. $Mg_2P_2O_7$ = 5,53% P.

Die Uebereinstimmung im P-Gehalt spricht in hohem Maasse dafür, dass sich das Albumin mit der Metaphosphorsäure nach constantem Verhältniss verbindet.

Der Höhe des Phosphorgehaltes nach steht das Serumalbuminnuclein zwischen dem Kossel'schen¹⁾ Hefenuclein (6,2% P) und Bunge's²⁾ eisenhaltigem Nuclein des Eidotters, das 5,19% P enthielt.

II. Hemialbumosenucleine.

Gleich dem Globulin und Albumin geben auch die Hemialbumosen mit Metaphosphorsäure Niederschläge, die aber wie die Muttersubstanz in der Wärme löslich sind und beim Erkalten wieder ausfallen. Zu den Versuchen wurde das Witte'sche Pepton, bekanntlich grösstentheils aus Albumosen bestehend, benützt.

Da die Verdauungsalbumosen, wie die Untersuchungen von Kühne und seinen Schülern lehren, Gemenge verschied-

¹⁾ Kossel, Nuclein der Hefe, Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. III, S. 284.

²⁾ Bunge, Lehrbuch d. phys. Chemie, 1887, S. 93.

dener Eiweisskörper sind, so stellte ich zuvor einige Versuchsreihen an, um aus diesem Gemenge einzelne Eiweisskörper abzuscheiden. Ich benützte hierzu die Eigenschaft der Albumosen, sich mit Ammonsulfat aussalzen zu lassen. Aus Vorversuchen ging hervor, dass der grösste Theil gelöster Albumose fällt (Fraction A), wenn man 3 Theile Albumoselösung mit 7 Theilen neutraler, kalt gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt. Sättigt man das Filtrat hiervon mit Ammonsulfat, so erhält man einen neuerlichen Niederschlag (B); filtrirt man ab, so fällt aus dem salzgesättigten Filtrat auf Säurezusatz der Rest der Hemialbumose (C) aus. Durch diese Fractionirung liessen sich also mit einem einzigen Salz drei Körper aus dem Albumosengemenge gewinnen.

Die betreffenden Albumosen A, B, C wurden stets nach der ersten Fällung in Wasser gelöst, neuerlich mit Ammonsulfat gefällt, durch Dialyse gereinigt, mit Natriummetaphosphat und verdünnter Salzsäure gefällt. Diese Niederschläge wurden dann so wie das Albuminnuclein behandelt. Auch die Humialbumosenucleine zeigen die wichtigsten Nucleineigenschaften: sie sind unlöslich in Säuren, löslich in Alkali, sie liefern beim Verbrennen eine intensiv sauer reagirende Kohle, die an Wasser Phosphorsäure abgibt. Ebenso wie bei den Albuminnucleinen kann man den Hemialbumosenucleinen durch Uebergiessen mit verdünnter Salzsäure (nach Liebermann) Phosphorsäure resp. Metaphosphorsäure entziehen. Kochen mit Alkali zersetzt sie rasch, so dass sich die Hemialbumose wieder als solche regenerirt. Es entsprechen also die Hemialbumosenucleine vielleicht am meisten gewissen nativen Nucleinen, die bei Spaltung mit Wasser oder Alkali¹⁾ peptonähnliche Stoffe liefern, da es nicht unwahrscheinlich ist, dass diese peptonartigen Eiweisskörper den Albumosen beizuzählen sind.

Da die Menge des Nucleins aus der Fraction C zu klein war, um analysirt werden zu können, so habe ich nur in jenen von A und B den P-Gehalt bestimmt.

¹⁾ Kossel, l. c. u. Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. IV, S. 290; ferner Hoppe-Seyler, Handbuch d. phys.-chem. Analyse, 6. Aufl., S. 304.

Fraction A.

I. 1,1161 gr. H.-Nuclein	geben 0,1932 gr. $Mg_2P_2O_7$	= 4,83% P.
II. 0,5593	» 0,0960	= 4,79

Fraction B.

I. 1,1071 gr. B	geben 0,2577 gr. $Mg_2P_2O_7$	= 6,49% P.
II. 0,9670	» 0,2247	= 6,48

Diese grosse Differenz des Phosphorgehalts bestätigt die von Kühne in zahlreichen Arbeiten vertretene Anschauung, dass der Name Hemialbumose nicht einem chemischen Individuum entspricht. Es ist nicht unmöglich, dass in der Bestimmung des Bindungsvermögens dieser einzelnen Albumosen gegenüber der Metaphosphorsäure ein werthvolles Merkmal zur Unterscheidung derselben gewonnen ist.

Da nach Miescher und Kossel eine Anzahl nativer Nucleine neben eiweissartigen Spaltungsproducten Körper der Harnsäurereihe liefern, so versuchte ich die künstlichen Nucleine mit Basen der Harnsäurereihe zu paaren: Meine Versuche blieben jedoch vorläufig erfolglos. Weder Xanthin, noch Hypoxanthin geben mit diesen Nucleinen unlösliche Verbindungen, die etwa dem Miescher'schen Nucleinprotamin entsprechen würden. Auch direct gibt Xanthin und Hypoxanthin mit Metaphosphorsäure keine unlösliche Verbindung. Dagegen gibt salzsaures Guanin mit Natriummetaphosphat einen in überschüssiger Säure unlöslichen Niederschlag, der in Alkalien löslich ist, somit äusserlich ein den nativen Nucleinen ähnliches Verhalten zeigt. Es muss weiterer Untersuchung vorbehalten bleiben, sicherzustellen, ob in jenen bisher bekannten Nucleinen, die bei der Spaltung neben eiweissartigen Spaltungsproducten Basen der Harnsäurereihe liefern (erste Gruppe Hoppe-Seyler's), nicht etwa Gemenge echter Eiweissnucleine mit derartigen schwerlöslichen Metaphosphatverbindungen der Harnsäuregruppe vorliegen.

Uebrigens ist die Fällbarkeit organischer Basen durch Metaphosphorsäure nicht auf die Harnsäurereihe beschränkt.

Salzsaures Guanidin gibt mit Natriummetaphosphat einen dichten krystallinischen Niederschlag, der aus Drusen feinsten Krystallnadeln besteht. In schwachen Säuren ist derselbe

nur theilweise löslich. Da die Möglichkeit vorlag, dass die Guanidinmetaphosphorsäureverbindung ein Salz oder eine andersartige Verbindung sei, so habe ich Phosphorbestimmungen derselben ausgeführt.

I. 0,41485 gr. Substanz	geben 0,3318 gr. $Mg_2O_2P_7$	= 22,33% P.
II. 0,8010 »	» 0,6418 »	= 22,37 »

Da die Formel $CN_3H_3 \cdot HPO_3$ 22,30% P verlangt, so entscheiden die Analysen die obige Frage dahin, dass jene Verbindung das bisher noch nicht dargestellte metaphosphorsaure Guanidin ist.

Auch pflanzliche Basen verbinden sich mit Metaphosphorsäure. Salpetersaures Strychnin gibt mit neutralem Metaphosphat einen aus Büscheln von Krystallnadeln bestehenden weissen Niederschlag, der löslich ist in Essigsäure, Alkohol und Aether. Salzsaures Chinin scheidet sich auf Zusatz von metaphosphorsaurem Natron als weisser käsiger Niederschlag ab, der sich in einem Ueberschuss des metaphosphorsauren Natrons löst, jedoch nicht so leicht, wie das Strychninmetaphosphat. Auch dieser Niederschlag ist in Aether und Alkohol löslich.

Die zuletzt beschriebenen Verbindungen der Metaphosphorsäure mit Basen verhalten sich wie Salze derselben, sie können daher mit den künstlichen Nucleinen nicht in eine Reihe gestellt werden, da diese gleich den natürlichen Nucleinen ausgesprochenen, wenn auch schwachen Säurecharakter besitzen.

Prag, August 1888.