

Zur Chemie der Paranucleinsäure

Von

P. A. Levene und C. Alsberg.

Aus der physiologisch-chemischen Abtheilung des Pathologischen Instituts der
New-Yorker Staatskrankenhäuser.)

(Der Redaction zugegangen am 10. Dezember 1900.)

Durch die Untersuchungen von A. Kossel wurde festgestellt, dass die Nucleine von Eidotter und Kuhmilch sich von anderen Nucleinen dadurch unterscheiden, dass sie keine Xanthinbasen in ihrem Moleküle enthalten. Doch hat Altman die sauerreagirende Substanz, die er aus dem Eidotternucleine gewann, als eine echte, nur von Eiweiss verunreinigte Nucleinsäure beschrieben.

Später widmete Milroy derselben Substanz eine gründlichere Untersuchung und kam zu dem Schlusse, sie unterscheidet sich von der wahren Nucleinsäure durch folgende Merkmale:

1. Sie ergibt bei der Zersetzung mit Säuren keine Xanthinbasen.

2. Sie gibt keine Millonreaction, wohl aber die Biuretprobe.

3. Das Verhältniss des P zu dem N ist ein anderes als bei den wahren Nucleinsäuren.

Ferner muss erwähnt werden, dass es bisher Niemandem gelungen ist, in dem Paranuclein des Eidotters eine Kohlehydratgruppe nachzuweisen.

Während die Nucleinsäuren nach den Untersuchungen von A. Kossel und A. Neumann Lävulinsäure liefern, waren

die Bemühungen von Ruppel, aus dem Paranuclein eine Lävulinsäure zu gewinnen, vergeblich.

Eine neue gründliche Untersuchung der sogenannten Paranucleinsäure schien uns sehr wünschenswerth und von dieser Absicht aus ist diese Arbeit unternommen worden.

Das Material zur Gewinnung der Säure war Avivetellin. Mit dem Namen Vitellin bezeichnen wir die Paranucleo-Verbindung des Eidotters. Es wurde auf folgende Weise gewonnen:

Der Eidotter wurde mechanisch von dem Eiweiss getrennt, dann mit einem gleichen Volumen 10%iger NaCl-Lösung tüchtig gemischt, mit Aether geschüttelt und 24 Stunden stehen gelassen. Hierauf wurde der Aether abgegossen, die NaCl-Lösung des Dotters wieder mit Aether geschüttelt und über Nacht stehen gelassen. Nachdem der Aether ungefähr dreimal erneuert worden war, wurde die NaCl-Lösung vollständig durchsichtig und liess sich sehr leicht filtriren. Die Behandlung mit Aether wurde fortgesetzt, bis durch denselben nur wenig Farbstoff mehr entzogen wurde. Die NaCl-Lösung wurde dann in mindestens das 20fache Volumen Wasser gegossen und das Vitellin dadurch niedergeschlagen.

Das oben schwimmende Wasser wurde sodann abgegossen und durch frisches ersetzt. Dieses Verfahren wurde mehrmals wiederholt, dann wurde das Vitellin abfiltrirt, wieder in 10%iger NaCl-Lösung aufgelöst und nochmals mit Aether in einem Scheidetrichter wie vorher geschüttelt.

Die NaCl-Lösung wurde dann filtrirt und das Vitellin durch einen grossen Ueberschuss von Wasser niedergeschlagen. Das Wasser wurde alsdann ein paar Mal erneuert, der Niederschlag abfiltrirt. Einige Präparate wurden dann nur mit kaltem Alkohol und Aether extrahirt, andere auch mit heissem Alkohol und Aether, und diese Extraction wurde so lange fortgesetzt, bis beinahe nichts mehr entzogen wurde. Dies wurde unternommen, um zu prüfen, welches das Verhältniss des Lecithins gegenüber dem Vitellin ist.

Wie bekannt, wird seit Hoppe-Seyler von den meisten Forschern angenommen, dass in dem Dotter das Vitellin mit

Lecithin in einer chemischen Verbindung ist. Andere dagegen wie Salkowski haben die Ansicht geäußert, dass das Lecithin nur eine Verunreinigung sei. Kürzlich hat sich auch T. Osborne zu Gunsten der Hoppe-Seyler'schen Anschauung ausgesprochen.

Die Analyse unserer Präparate zeigte, dass manche Präparate, die längere Zeit mit heissem Alkohol und Aether extrahirt waren, mehr Phosphor enthielten wie diejenigen, die nur mit kalten Extractionsmitteln behandelt waren. So zum Beispiel enthielten die nur mit kaltem Alkohol behandelten zwei Präparate 0,84% und 1,22% P, und zwei von denen, die mit Alkohol und Aether gekocht waren, 0,88% und 1,21% P.

Wir haben vorläufig aus äusseren Gründen auf eine gründlichere Untersuchung der Frage verzichten müssen: doch ist uns die Ansicht von Salkowski wahrscheinlicher wie die andere. Wir hoffen auf diese Frage zurückzukommen.

Zur Herstellung der „Avivitellinsäure“, wie wir die Paranucleinsäure des Vitellins zu nennen vorschlagen, wurde gewöhnlich die ungereinigte Substanz benutzt, d. h. letztere wurde nicht ein zweites Mal in NaCl-Lösung aufgelöst.

Die Säure wurde gewonnen nach der Methode, welche schon einer von uns veröffentlicht hat. Das Vitellin wurde in Wasser aufgenommen (400 ccm. wurden gewöhnlich für das Vitellin aus 100 Eiern verwendet), hierauf ein halbes Volumen starkes Ammoniumwasser (25%) hinzugefügt. Das Gemisch wurde ungefähr 2 Stunden lang stehen gelassen, dann allmählich und langsam durch Essigsäure neutralisirt: es wurde Eis hinzugefügt, um das Gemisch während der Neutralisation kalt zu erhalten. Wenn die Reaction neutral oder beinahe neutral war, so wurde ein beträchtlicher Ueberschuss von Pikrinsäure zugegeben (ca. 100 ccm. einer gesättigten Lösung) und dann noch mehr Essigsäure, bis die Reaction stark sauer war. Die Flüssigkeit wurde abfiltrirt, das Filtrat mit einigen Volumen Alkohol behandelt und dadurch ein Niederschlag gebildet. Dieser in Wasser lösliche Niederschlag konnte durch Essigsäure nicht wieder gefällt werden. Die essigsäure Lösung dieser Substanz, in eine essigsäure

Lösung von Albumosen gegossen, bildete einen Niederschlag, verhielt sich also ebenso wie die wahre Nucleinsäure.

Der erste Niederschlag durch Alkohol wurde in H_2O wieder gelöst und mit Essigsäure angesäuert. Alsdann wurde einem abgemessenen kleinen Theil der Lösung Alkohol hinzugefügt, der 0,5% HCl enthielt, bis das Gemisch auf Congo sauer reagierte. Hierauf wurde der Rest der Lösung der Substanz in eine danach berechnete Quantität desselben Alkohols gegossen.

Der dadurch gebildete Niederschlag wurde zuerst mit 50%, dann mit 80% und 95% Alkohol gewaschen, bis er chlorfrei wurde, hierauf mit kochendem Alkohol und Aether extrahirt. 0,2603 des Präparates wurden mit Natriumcarbonat + Kaliumnitrat geschmolzen. $Mg_2P_2O_7 = 0,0903$. $P = 9,69\%$.

Eine ähnliche von Altmann gewonnene Substanz enthielt ca. 7,0%, die von Milroy gewonnene dagegen 7,51 bis 7,94% P.

Um festzustellen, ob es möglich sei, eine Substanz mit noch höherem P-Gehalt zu gewinnen, wurde der ursprüngliche Niederschlag nochmals gelöst und niedergeschlagen und erst dann analysirt.

Präparat IIIa.

Der erste Niederschlag, in Wasser aufgenommen, ging beinahe ganz in Lösung über und hinterliess nur eine geringe Trübung, die nach Hinzufügung von einigen Tropfen starken Ammoniaks verschwand. Dann wurde essigsäures Ammonium hinzugefügt, die Lösung durch Essigsäure sauer gemacht und die Substanz mittelst Alkohol ausgeschieden. Dieses Verfahren wurde zweimal wiederholt. Der auf diese Weise gewonnene Niederschlag war vollkommen in Wasser löslich. Die so entstandene Lösung wurde durch Ammoniakwasser alkalisch gemacht, ungefähr zwei Stunden stehen gelassen und dann in eine vorher abgemessene Menge Alkohol gegossen, der 0,5% HCl enthielt (nach der oben beschriebenen Methode). Die Substanz wurde hierauf gewaschen und extrahirt, wie oben angegeben.

0,1775 g der Substanz bei 100° C. getrocknet und wie oben geschmolzen ergaben $Mg_2P_2O_7 = 0,0632$ g. P = 9,95%.

0,3968 g der Substanz wurden durch 20 ccm. Schwefelsäure und 10 g K_2SO_4 zersetzt und der Stickstoff nach Kjeldahl's Methode bestimmt. 50 ccm. $\frac{N}{10} H_2SO_4$ erforderten zur Neutralisirung 12,1 ccm. $\frac{N}{10} NaOH$. N = 13,39%.

0,123 g derselben Substanz wurden auf dieselbe Weise behandelt. 40 ccm. $\frac{N}{10} H_2SO_4$ erforderten zur Neutralisirung 27,9 ccm. $\frac{N}{10} NaOH$. N = 13,77%.

Präparat V.

Der erste Niederschlag wurde wieder in Wasser und genügend Ammonium, um die Lösung zu vervollständigen, aufgelöst. Letztere wurde dann mit Alkohol behandelt und dadurch ein Niederschlag gebildet. Dieser letzte Niederschlag wurde wieder in Wasser gelöst und die Lösung in ein abgemessenes Volumen durch 0,5% HCl angesäuerten Alkohols gegossen. Endlich wurde der Niederschlag, wie oben angegeben, gewaschen und extrahirt.

0,2199 g dieser Substanz wie oben geschmolzen ergaben $Mg_2P_2O_7 = 0,078$ g. P = 10,02%.

0,2466 g wurden zur Stickstoffbestimmung wie oben benutzt. 50 ccm. $\frac{n}{10} H_2SO_4$ erforderten zur Neutralisirung 25,2 ccm. $\frac{n}{10} NaOH$. N = 14,07%.

0,1258 g wurden ebenso zur Stickstoffbestimmung behandelt. 40,1 ccm. $\frac{n}{10} H_2SO_4$ erforderten zur Neutralisirung 27,5 ccm. $\frac{n}{10} NaOH$. N = 13,94%.

Präparat VIII wurde wie Präparat III behandelt, mit dem einzigen Unterschiede, dass das Verfahren nicht zweimal, wie bei letzterem, sondern dreimal wiederholt wurde.

0,2322 g des Präparates wurden wie oben geschmolzen. $Mg_2P_2O_7 = 0,0811$ g. P = 9,79%.

0,2644 g wurde zur Stickstoffbestimmung benutzt, wie oben. 50 ccm. $\frac{n}{10} H_2SO_4$ erforderten zur Neutralisirung 22 ccm. $\frac{n}{10} NaOH$. N = 14,07%.

	P	N
I.	9,69	—
III.	9,95	13,58
V.	10,02	14,00
VIII.	9,79	14,07

Aus dieser Tabelle ist deutlich zu ersehen, dass trotz des verschiedenen Grades der Reinigung die Substanz in Bezug auf ihren Gehalt an P und sogar an N wenig variiert. Nun haben aber alle, welche mit Nucleinsäure gearbeitet haben, die Thatsache beobachtet, dass es sehr schwierig ist, die Basen aus den Salzen wegzuschaffen.

Aus diesem Grunde wurde es für rathsam gehalten, irgend ein Salz, das in Wasser unlöslich ist, zu analysiren. Das Kupfersalz erwies sich für diesen Zweck als das passendste.

Das Salz wurde auf folgende Weise hergestellt: Unge reinigte Paranucleinsäure wurde so oft gelöst und niedergeschlagen, bis sie vollständig in Wasser löslich wurde. (Dies wurde durch das anhaftende Ammoniumacetat verursacht.) Diese Lösung wurde dann filtrirt und dem Filtrate so viel Kupferchlorid hinzugefügt, bis es anfang, auf Congopapier zu reagiren. Der Niederschlag des Kupfersalzes der Nucleinsäure wurde abfiltrirt, mit Wasser gewaschen, bis das Waschwasser kupferfrei war, sodann mit Alkohol, bis es chlorfrei war, endlich mit heissem Alkohol und Aether. (Dieses Verfahren nahm gewöhnlich ungefähr 3 Tage in Anspruch: während der Nacht wurde der Niederschlag gewöhnlich von dem Filtrirpapier abgenommen und in Wasser gut verrieben.)

Präparat V.

Das Cu-Salz war aus dem oben analysirten Präparat V dargestellt.

0,1564 g wurde mit Natriumcarbonat und Kaliumnitrat zur Kupfer- und Phosphorbestimmung geschmolzen.

$\text{CuO} = 0,023$, $\text{Cu} = 12,36\%$.

$\text{Mg P}_2\text{O}_7 = 0,0480$ g, $\text{P} = 8,57$; für die freie Säure = **9,78**
0,1177 g wurden nach Kjeldahl zersetzt.

40,0 ccm. n_{10} H_2SO_4 erforderten zur Neutralisirung 30,3 ccm. n_{10} NaOH ; $\text{N} = 11,55$; für die freie Säure = **13,05**.

Präparat XV.

C- und H-Bestimmung.

I. 0,2152 g von der Substanz ergaben bei der Verbrennung 0,2282 g CO_2 ; $\text{C} = 28,90\%$; $\text{H}_2\text{O} = 0,0995$; $\text{H} = 5,13\%$.

II. 0,1950 g ergaben bei der Verbrennung 0,2038 g CO_2 ; C = 28,46% und 0,088 g H_2O — H = 5,01%.

0,4030 g wurden zur P- und Cu-Bestimmung geschmolzen.

$\text{CuO} = 0,0617$ g — Cu = 12,20%; $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,1280$; P = 8,87% für die freie Säure 10,11%.

0,2250 g wurden nach Kjeldahl behandelt. 44,0 ccm. n_{10} H_2SO_4 erforderten zur Neutralisirung 22,1 ccm. n_{10} NaOH. N = 11,76% oder 13,38% für die freie Säure.

0,5490 g wurden mit Natriumcarbonat und Kaliumnitrat zur Schwefelbestimmung geschmolzen.

$\text{BaSO}_4 = 0,0102$; S = 0,2557.

Präparat XVI.

C- und H-Bestimmung.

0,1853 g der Substanz ergaben bei der Verbrennung 0,1780 g CO_2 ; C = 26,20 und 0,0747 g H_2O — H = 4,53%.

0,1938 g der Substanz ergaben bei der Verbrennung 0,1859 g CO_2 ; 26,26 und 0,0795 H_2O ; H = 4,33%.

0,1405 g wurden zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl behandelt, 40,0 ccm n_{10} H_2SO_4 erforderten zur Neutralisirung 29,4 ccm. n_{10} NaOH. N = 10,56%; für die freie Säure übergerechnet N = 12,97%.

0,2860 g wurden mit Natriumcarbonat und Kaliumnitrat zur P- und Cu-Bestimmung zusammenschmolzen.

$\text{CuO} = 0,062$; Cu = 17,95%; $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,0818$; P = 7,99; für die freie Säure übergerechnet = 9,74%.

0,6722 g der Substanz wurden mit Natriumcarbonat und Kaliumnitrat zur Schwefelbestimmung zusammenschmolzen.

$\text{BaSO}_4 = 0,0138$ g. — S = 2979.

Folgende Tabelle gibt die Resultate für die kupferfreie Substanz übergerechnet:

	C	H	N	P	S
Präparat V.	—	—	13,05	9,78	—
„ XV.	32,66	5,77	13,38	10,11	0,2912
„ XVI.	31,96	5,39	12,97	9,74	0,3620
Mittel:	32,31	5,58	13,13	9,88	0,3266

Zur Eisenbestimmung wurden 2 g von dem Präparat XVII gründlich mit Natriumcarbonat gemischt und dann mit verdünnter Salzsäure behandelt. Der Rest wurde geglüht, bis aller Kohlenstoff weggebrannt war, und das Eisen durch Titrieren mit KMnO_4 bestimmt. Es enthielt 0,57% Fe.

Die freie Paranuclensäure ist unlöslich in Wasser, in schwacher Säure, sowie in Alkohol und Aether: sie ist aber

löslich in essigsauren Salzen — am besten in essigsaurem Ammoniak. Die Ammonium-, Natrium- und Kaliumsalze sind in Wasser löslich, die Baryum-, Kupfer- und Eisensalze dagegen unlöslich. Im Zusammenhang mit der verschiedenen Löslichkeit der Salze muss eine Eigenthümlichkeit hervorgehoben werden, nämlich der Einfluss des Alkohols auf die Löslichkeit. Wenn man die freie Säure in Wasser aufnimmt, Ammoniakwasser zugibt, um die Lösung zu vervollständigen, dann Alkohol hinzugießt, bis das Salz der Paranucleinsäure vollständig niedergeschlagen ist, und einige Zeit stehen lässt, so bleibt der Niederschlag in Wasser löslich, und dasselbe Verfahren kann beliebig oft wiederholt werden, ohne dass die Löslichkeit der Substanz beeinflusst wird.

Wenn man aber Natron- oder Kalihydrat statt Ammoniak verwendet, um die Lösung der Paranucleinsäure zu vervollständigen, und das Experiment wie zuvor wiederholt, dann verliert das Natron oder Kalisalz, welches man unter Alkohol stehen lässt, allmählich die Löslichkeit. In Wasser aufgenommen, schwillt ein solches Natron- oder Kalisalz zu einer gelatinösen Masse an, die sich nicht filtriren lässt. In Gegenwart von Acetaten verbessert sich die Löslichkeit nicht. Wir versuchten auch, die Acetate hinzuzufügen, ehe der Alkohol zugegossen wurde, um dem coagulirenden Einfluss der letzteren vorzubeugen, jedoch ohne Erfolg. Ein solches unlösliches Natronsalz war auf seinen Phosphorgehalt untersucht und erwies 8,92% P. (Diese Eigenschaft der Paranucleinsäuren kann vielleicht als Anhaltspunkt dazu dienen, sie von der wahren Nucleinsäure zu trennen; dieses Problem wollen wir uns vorbehalten.)

Ueber das Proteid der Vitellinsäure.

Die Säure gibt eine sehr charakteristische Reaction mit der Biuretprobe. Dadurch bewies Milroy, dass die Substanz nicht proteinfrei war. Viele Versuche wurden von uns gemacht, um dieses Eiweiss wegzuschaffen; sie waren alle vergeblich. Eines von den Experimenten verdient jedoch erwähnt zu werden.

Schmiedeberg hat seine Chondroitinschwefelsäure und später verschiedene Nucleinsäuren dadurch gereinigt, dass er das ungereinigte Material in Alkalien auflöste, denen er essigsaure Kupferlösung und dann Alkohol hinzufügte. Dadurch bildet sich ein Niederschlag, welcher das Kupfersalz der Säure enthält; das Eiweiss bleibt in der Lösung, welche die violette Biuretfarbe zeigt.

Wird Vitellin auf dieselbe Weise behandelt, so reagiert es, wie Schmiedeberg es beschreibt. Wenn man aber das Experiment mit der Vitellinsäure wiederholt, so ist das Resultat ein anderes.

So wurden z. B. ca. 10 g der Säure in 150 ccm. einer 10%igen Lösung von Natronhydrat gelöst, sodann eine Lösung von Kupferacetat hinzugefügt, die einen Niederschlag von Kupferhydroxyd verursachte. Hierauf wurde noch mehr von der Natronhydratlösung hinzugefügt und zuletzt das Ganze mit 2 Volumen Alkohol behandelt. Es wurde über Nacht stehen gelassen. Der Niederschlag nahm die violette Färbung an, welche für die Biuretprobe charakteristisch ist; das Filtrat war gelblich und enthielt keine Spur von Biuret.

Der Niederschlag war in Wasser löslich. Eine solche Lösung wurde dann mit Lösungen von Natriumhydroxyd und Kupferacetat wie vorher behandelt. Diese letztere Lösung zeigte dann die für Biuret charakteristische Färbung. Dann wurde das gleiche Volumen Alkohol hinzugegossen und das Ganze über Nacht stehen gelassen. Der Niederschlag hatte dieselbe violette Färbung, das Filtrat war gelblich und absolut biuretfrei.

Dies schien anzuzeigen, dass nicht alles Proteid im Vitellin auf dieselbe Weise an die Phosphorsäure gebunden ist, dass vielmehr ein Theil möglicher Weise eine engere Verbindung eingegangen ist, wahrscheinlich unter der Form eines Esters und dadurch die Paranuclein- oder Vitellinsäure bildet, welche letztere den Rest des Proteids in Form eines Salzes bindet.

Das ist natürlich eine blosse Hypothese.

In Bezug auf die Millonprobe gibt Milroy an, dass seine Substanz, die ca. 7,5% P enthielt, die Reaction nicht gab. Dieser Umstand ist von grosser Bedeutung im Hinblick auf die neuesten Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung der verschiedenen Spermien: in letzteren ist die Nucleinsäure verbunden mit Protamin, welches nur die Biuret-farbenprobe und nicht die Millonprobe zeigt.

Mit Bezug darauf haben wir 13 Präparate untersucht, welche alle die Millonprobe zeigten, vorausgesetzt, dass sie gründlich von Acetaten und Chloriden frei gewaschen wurden. Wenn diese Vorsichtsmassregel unterlassen wurde, so ergaben sie letztere Reaction nicht.

Es war jedoch nicht unwahrscheinlich, dass die Millonprobe zeigende Substanz nur eine Verunreinigung der reinen Paranucleinsäure war und letztere Säure eine Verbindung eines Protamins mit irgend einer Phosphorsäure ist. In diesem Falle sollte das stickstoffenthaltende Radical meistens aus Hexon-Basen bestehen.

Um diese Vermuthung zu bestätigen, wurden ungefähr 75 g der Paranucleinsäure mit einer 20%igen Lösung von Salzsäure 72 Stunden lang zersetzt. Die dabei gebildete Quantität Melanin war sehr bedeutend: die Beschaffenheit desselben wurde jedoch nicht untersucht.

Die von Melanin befreite Flüssigkeit enthielt 3,45 g Stickstoff in Gestalt organischer Verbindungen.

Der Arginin enthaltende Bruchtheil enthielt 0,616 g N oder 17,82% des organischen Stickstoffs.

Das Arginin wurde durch das Silbersalz erkannt. 0,200 g des Salzes gaben 0,0704 g AgCl; Ag = 26,47%; für $C_6H_{11}N_4O_2HNO_3 + AgNO_3$ berechnet Ag = 26,54%.

Das Histidin wurde als salzsaures Salz erhalten. Ein wenig über 0,5 g oder 0,1 g Stickstoff wurde gewonnen = etwa 3% des organischen Stickstoffs.

0,4502 g des letzteren gaben 0,3180 g AgCl. Cl = 17,47%. Für $C_6H_9N_3O_2HCl + H_2O$ berechnet = 16,90%.

Der das Lysin und andere stickstoffhaltige Substanzen enthaltende Bruchtheil ging durch Unfall verloren.

Die zur Gewinnung der Hexon-Basen benutzten Methoden waren diejenigen, welche in verschiedenen Arbeiten beschrieben wurden, die im Laufe der letzten Jahre aus Professor Kossel's Laboratorium hervorgegangen sind.

Das Ergebniss des Zersetzungsversuches mit der Vitellinsäure rechtfertigt die Annahme nicht, dass das Proteid des Säuremoleküls von der Beschaffenheit eines Protamins sei. Die Eigenschaft, eine positive Millonprobe zu ergeben, deutet auf dieselbe Schlussfolgerung hin.

Mit anderen Worten: Die verhältnissmässig constante Zusammensetzung der verschiedenen untersuchten Präparate, ihr Verhalten gegen Millon- und Biuretprobe, und zur Probe Schmiedeberg's, endlich der Zersetzungsversuch weisen alle auf dieselbe Schlussfolgerung hin, dass die Vitellinsäure eine Verbindung von Eiweiss mit Phosphorsäure sei, möglicher Weise in der Form eines Esters. Die Thatsache, dass es einem von uns gelungen ist, nach derselben Methode, vermittelt welcher die Vitellinsäure erhalten wurde, ohne Mühe verschiedene Nucleinsäuren vollständig biuretfrei zu gewinnen, scheint diese Schlussfolgerung zu bestätigen.

Es muss aber hinzugefügt werden, dass die Verbindung nicht sehr beständig ist. Stellt man eine Lösung von Vitellinsäure in 2%iger Lösung von kohlensaurem Natrium nur 5—10 Minuten auf ein Wasserbad, so zersetzt sie sich. Eine solche Lösung enthält freie Phosphorsäure: säuert man mit Salzsäure an und gibt Alkohol hinzu, so entsteht ein Niederschlag, der ärmer an Phosphor ist, als die ursprüngliche Säure.

Dasselbe geschieht, wenn man die Vitellinsäure durch einen Ueberschuss von Salzsäure niederschlägt.

Ueber das Eisen in der Vitellinsäure.

Bunge war der erste, der auf das Eisen in dem Nuclein des Eidotters aufmerksam machte. Nach seiner Ansicht ist das darin enthaltene Eisen nicht direkt an den Kohlenstoff gebunden, indem es mit demselben eine organische Verbindung bildet. Auch existirt es nicht in der Form eines gewöhnlichen

Salzes. Es konnte aus dem Nuclein (Hämatogen) nicht durch Alkohol, der mit Salzsäure angesäuert war, extrahirt werden, durch Ammonsulfid wurde das Eisen erst nach langem Stehen aus der Nucleinlösung niedergeschlagen.

Ascoli untersuchte die Angelegenheit von Neuem in Professor Kossel's Laboratorium. Er fand, dass metaphosphorsaures Eisen auf eine ähnliche Weise wie Bunge's Hämatogen reagirt, und er schliesst daraus, das Eisen sei in letzterem in der Form eines Metaphosphats enthalten.

Es schien uns, dass diese Schlussfolgerungen des Herrn Ascoli auf die Paranucleinsäure nicht ohne Weiteres zu übertragen sind, und zwar aus dem folgenden Grunde: In den metaphosphorsauren Salzen kann das Eisen auch mit allen gewöhnlichen Proben entdeckt werden, wenn zu einer Lösung von Eisenmetaphosphat so viel Salzsäure zugegeben wird, dass die Lösung auf Congo sauer reagirt.

Mit der Vitellinsäure ist das aber nicht immer der Fall, wie aus dem folgenden Experimente zu sehen ist.

Etwas Vitellinsäure wurde mit Hilfe von Ammoniakwasser gelöst und dann mit soviel Salzsäure niedergeschlagen, bis die Lösung auf Congo sauer reagirte. Der Niederschlag wurde dann mit destillirtem Wasser gewaschen, bis das Waschwasser eisenfrei war. Es wurde wieder aufgelöst, wieder auf dieselbe Weise niedergeschlagen, nochmals filtrirt und gewaschen. Dieses wiederholte Niederschlagen wurde solange fortgesetzt, bis die Salzsäure aufhörte, Eisen zu entziehen. Die Probe auf Eisen wurde mit Ammoniumsulfocyanid und Aether vorgenommen. Erst wenn der Aether vollständig farblos blieb, wurde die Reinigung als beendet angesehen.

Wurde eine Vitellinsäure nach so oft wiederholtem Niederschlagen nochmals aufgelöst, mit Salzsäure angesäuert, bis sie auf Congo sauer reagirte, und so über Nacht stehen gelassen, dann zeigte das Salzsäurefiltrat wieder das Vorhandensein von Eisen.

Litteratur.

Altmann, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1889.

Ascoli, Zeitschr. f. physiol. Chem. XXVIII.

Bunge, Zeitschr. f. physiol. Chem. IX. 49.

Kossel, Untersuchungen über die Nucleine, Strassburg 1881.

— Zeitschr. f. physiol. Chem. X. 248.

— Verhandlungen d. Congresses f. innere Medicin, 14. 188—189;
(ibid. Ruppel).

Levene, Journal of the American Chemical Society, vol. XXII, p. 6.

Milroy, Zeitschr. f. physiol. Chem. XXII. 307.

Osborne & Campbell, Reprint from the twenty-third Report of the
Connecticut Agricultural Experiment Station. — New Haven,
Conn. —.

Salkowski, Practicum d. physiol. Chem.

Schmiedeberg, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. 43. 57.