

Die Nucleinsäure des Weizenembryos.

Von

Thomas B. Osborne und Isaac F. Harris.

(Aus dem Laboratorium der Landwirthschaftl. Versuchsstation von Connecticut
in New Haven, Conn., U. S. A.)

Der Redaction zugegangen am 28. Juni 1902.

Vor einiger Zeit hat der Eine von uns kurz eine Nucleinsäure beschrieben, die in relativ grossen Mengen im Weizenembryo vorkommt¹⁾ und die in Eigenschaften und Zusammensetzung den Nucleinsäuren thierischen und pflanzlichen Ursprungs ähnlich war.

Unseres Wissens ist dies die erste Nucleinsäure, die bis jetzt aus höheren Pflanzen isolirt worden ist, denn die einzige Nucleinsäure pflanzlicher Herkunft, die bisher in annähernd reinem Zustande erhalten worden ist, wurde in der Hefe gefunden.

Da die Nucleinsäure des Weizens sich scharf von den bisher beschriebenen Nucleinsäuren unterscheidet, schlagen wir vor, sie Triticonucleinsäure zu nennen.

Wir haben kürzlich diese Triticonucleinsäure einem eingehenden Studium unterworfen, ihre Zersetzungsproducte und viele ihrer wichtigeren Eigenschaften untersucht und Resultate erhalten, die uns erlauben, die wahrscheinliche Configuration ihres Moleküls festzulegen. Leider mussten wir die Untersuchung vor dem gänzlichen Abschluss abbrechen, doch hielten wir es für angemessen, die bisher erhaltenen Resultate zusammenzu-

¹⁾ Journ. Am. Chem. Soc., Bd. 22, S. 379, 1899, ferner: Report of the Conn. Agric. Expt. Station for 1899.

fassen, und wir hoffen sobald als möglich die noch fehlenden Lücken ergänzen zu können.

Der Embryo des Weizens, und zweifellos auch der anderer Samen, ist äusserst reich an Nucleinsäure. Schnitte, die mit Jod grün gefärbt waren, zeigen, dass die Gewebe der embryonalen Pflanze aus kernhaltigen Zellen bestehen, deren Kerne so gross sind, dass an manchen Stellen das gefärbte Gewebe überhaupt nichts Anders zu enthalten scheint. Extrahirt man den fein zermahlenden Embryo mit Wasser, so geht ein grosser Theil der Nucleinsäure, zusammen mit Eiweissstoffen, in Lösung und kann von dem Letzteren in der Weise getrennt werden, wie es auf den folgenden Seiten beschrieben werden wird.

Das zur Untersuchung benutzte Mehl war ein Handelsproduct aus modernen Mühlen, das fast nur aus den Embryonen der Samenkörner bestand, die auf ihrem Wege durch glatte Stahlrollen zu dünnen Schüppchen gepresst worden waren. Da sehr wenig Kleie und noch weniger vom Endosperm dem Mehle beigemischt war, so bot es uns ein ausgezeichnetes Material dar, um an ihm die Bestandtheile des Embryos näher zu studiren.

Aus frischem Mehl liessen sich etwa 1,25% Triticonucleinsäure gewinnen, doch erwies es sich als nothwendig, sehr frisches Mehl in Arbeit zu nehmen, da wir fanden, dass nach einigen Wochen dasselbe Mehl, von dem wir zuerst eine Ausbeute zu 1,25% erhalten hatten, nur noch ganz geringe Mengen Nucleinsäure lieferte.

Durch Wasserextraction wurde nur ungefähr $\frac{1}{3}$ der Triticonucleinsäure erhalten, wie die folgenden Versuche zeigen.

10 g Mehl wurden mit 4% iger HCl 4 Stunden gekocht, vom Ungelösten abfiltrirt, nachgewaschen und das Filtrat mit Ammoniak alkalisch gemacht. Dann wurde mit ammoniakalischer Silberlösung ein Niederschlag erzeugt, dieser Niederschlag der Silberverbindungen der Purinbasen durch Waschen möglichst ammoniakfrei gemacht, in Wasser suspendirt und mit Magnesia gekocht, bis sämtliches Ammoniak herausgetrieben war. Die Lösung wurde nun mit 20 ccm. Schwefelsäure versetzt, das

Wasser verdunstet und die Menge des in den Purinbasen enthaltenen Stickstoffs nach Kjeldahl bestimmt.

Wir fanden auf diese Weise 0,0360 g Purinbasenstickstoff in 10 g Mehl, entsprechend 0,0730 g einer Mischung gleicher Theile Guanin und Adenin, die 0,356 g Triticonucleinsäure äquivalent sind, oder 3,56^o o.

Die quantitative Bestimmung der Purinbasen, die in der Triticonucleinsäure enthalten sind, ist auf den folgenden Seiten beschrieben.

Es erwies sich nicht als vortheilhaft, eine alkalische Lösung zur Extraction des Mehles zu verwenden, wodurch zweifellos eine grössere Ausbeute an Nucleinsäure erzielt worden wäre, denn die alkalischen Extracte waren nicht filtrirbar.

I. Darstellung der Triticonucleinsäure.

a) Erste Extraction.

9 kg fein gemahlene ölfreies Mehl von Weizenembryonen wurden mit ungefähr 60 l. Wasser geschüttelt, das Extract durch ein Tuch geseiht und 24 Stunden an einem kühlen Orte unter Thymolzugabe absitzen gelassen. Dann wurde das etwas trübe Extract vom Niederschlag abgehebert, mit Kochsalz gesättigt und stark mit Essigsäure angesäuert. Der so erzeugte bedeutende Niederschlag wurde abfiltrirt und mit Wasser gewaschen, bis die Hauptmasse des Salzes und der Säure entfernt war. Er wurde nun in Wasser suspendirt, ein gleiches Volumen 4^oiger HCl, die 3 g kräftig wirksames Pepsin enthielt, zugefügt und 24 Stunden bei 40^o der Verdauung unterworfen. Das Ungelöste wurde jetzt abfiltrirt, wieder in 6 l. 2^oiger HCl, die 1,5 g Pepsin enthielten, aufgeschwemmt und noch einmal 24 Stunden bei 40^o verdaut. Dann wurde die Operation noch einmal wiederholt. Da das Filtrat vom ungelösten Nuclein jetzt nur noch wenig Proteosen enthielt, wurde das Nuclein ausgewaschen, in 3 l. Wasser aufgeschwemmt, durch ein feines Tuch geseiht, um vollständige Zertheilung zu erzielen, und ein abgemessener Theil gegen Phenolphthalein mit einer gemessenen Menge Kalilauge neutralisirt. Dann wurde

die ganze Lösung mit der berechneten Menge Alkali neutral gemacht, klar filtrirt und in 2 gleiche Theile, A und B, getheilt.

Theil A wurde mit soviel $\frac{1}{10}$ Normalsalzsäure behandelt, als gerade genügte, um einen flockigen Niederschlag zu erzeugen, der sofort sich absetzte und leicht abfiltrirt werden konnte. Das so erhaltene schwach bräunliche und stark saure Filtrat wurde mit einem Ueberschuss von Salzsäure versetzt, die einen charakteristischen Niederschlag erzeugte, der sich schnell absetzte und bald zu einer festen Masse am Boden vereinigte, die unter Wasser zu einem groben Pulver zerrieben werden konnte. Dies Letztere wurde mit Wasser ausgewaschen, in verdünnter Kalilauge gelöst und wieder mit Salzsäure gefällt. Der jetzt erhaltene Niederschlag wurde wieder in verdünnter Kalilauge gelöst und die Lösung des Kalisalzes in das 10fache Volumen starken Alkohols gegossen. Um den Niederschlag vollkommener zu machen, wurde etwas Ammoniumacetat hinzugefügt und dann der Niederschlag gründlich mit absolutem Alkohol gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet. Dieser Niederschlag (Nr. 1), der 12,8 g wog, war ein weisses, amorphes Pulver, leicht löslich in Wasser, seine concentrirte Lösung sah gelblich-braun aus. Dies sowie die folgenden Präparate wurden bei 110° zu Gewichtconstanz getrocknet und nach folgenden Methoden analysirt.

Methode der Analysen.

Kohlen- und Wasserstoff. Die Substanz wurde mit einer grossen Menge frisch geglühten Calciumphosphates gemischt und im offenen Rohr, das mit Kupferoxyd und einer grossen Spirale von reducirter Kupfergaze beschiekt war, im Sauerstoffstrom verbrannt. Das Calciumphosphat absorbirte das schmelzbare Metaphosphat, das bei der Verbrennung der Substanz entstand, und machte eine vollkommene Verbrennung möglich.

Der Stickstoff wurde nach Kjeldahl bestimmt.

Phosphor: Die Substanz wurde im Nickeltiegel mit Aetznatron geschmolzen und mit Natriumperoxyd oxydirt. Die Schmelze wurde in Salpetersäure gelöst, die Phosphorsäure

mit Ammoniummolybdat gefällt und als Magnesiumpyrophosphat in gewöhnlicher Weise zur Wägung gebracht.

Kalium und Natrium: Die Substanz wurde im Porzellantiegel verbrannt und das zurückgebliebene geschmolzene Metaphosphat gewogen. Dies wurde dann durch langes Kochen mit Salzsäure in Lösung gebracht, die Menge des Phosphors bestimmt und als PO_3 berechnet. Von dem Gewichte des Metaphosphates wurde diese Menge abgezogen und die Differenz als Werth für Kalium oder Natrium angesehen, je nachdem der Niederschlag von nucleinsaurem Kali oder Natron erhalten worden war. Wenn auch natürlich die so erhaltenen Resultate nicht ganz genau sind, so sind sie doch besser wie die durch direkte Bestimmung der Basen erhaltenen und genügen hinreichend, um sämtliche diesbezüglichen Fragen zu beantworten.

Saures nucleinsaures Kali, Präparat Nr. 1.

	Gefunden:	Atomrechnung:
C	33.06	42.12
H	4.22	64.52
N	14.96	16.32
P	8.11	4.00
K	8.72	3.40
O	30.93	29.56
	100.00	
Asche	28.60	
PO_3	19.88	
K	8.72	

Die Formel für die freie Säure ist nach diesen Zahlen $\text{C}_{12}\text{H}_{68}\text{N}_{16}\text{P}_4\text{O}_{30}$.

Die andere Hälfte B der alkalischen Nucleinlösung wurde nach Leyene's Methode¹⁾ mit einer starken Pikrinsäurelösung, die 18 g Pikrinsäure enthielt, behandelt, es wurde eine der Salzsäure äquivalente Menge hinzugefügt, die ungefähr die erforderliche Quantität zu sein schien, da ein vollkommenes Ausfallen des Eiweisses erst eintrat, als fast die gesammte Pikrinsäure hinzugesetzt war. Die eiweissfreie filtrirte Lösung

¹⁾ Journ. Am. Chem. Soc., Bd. 22, S. 329, 1900.

wurde mit einem Ueberschuss von Salzsäure versetzt und lieferte einen flockigen Niederschlag, der sich bald zu einer zusammenhängenden Schicht absetzte und die charakteristischen Eigenschaften unserer Nucleinsäure hatte. Nach gründlichem Waschen mit Wasser wurde der Niederschlag in Kalilauge gelöst, durch einen Ueberschuss von Salzsäure wieder gefällt, gewaschen, wieder in das Kalisalz übergeführt und durch Eingiessen in das 10—12 fache Volumen starken Alkohols zur Fällung gebracht. Dem Alkohol waren einige Tropfen einer Lösung von essigsäurem Ammonium zugefügt, um eine raschere Ausfällung zu erzielen. Das fast farblose Präparat Nr. 2 wurde mit absolutem Alkohol dann über Schwefelsäure getrocknet, wog 10 g und hatte, bei 110° getrocknet, folgende Zusammensetzung:

Saures nucleinsaures Kali, Präparat Nr. 2.

	Gefunden:	Atomrechnung:
C	33,00	41,52
H	4,07	61,44
N	15,99	17,24
P	8,20	4,00
K	6,11	2,40
O	32,63	30,84
	<hr/>	
	100,00	
Asche	25,40	
PO ₃	19,29	
	<hr/>	
K	6,11	

Formel der freien Säure $C_{41}H_{63}N_{17}P_4O_{31}$.

Das Präparat zeigt ein Atom Stickstoff mehr und ein Atom Kali weniger wie Präparat Nr. 1.

Da Ammoniumacetat verwendet wurde, um den Niederschlag des Kalisalzes besser in der alkoholischen Lösung zu erzeugen, so ist es leicht möglich, dass sich etwas Ammoniak mit der Nucleinsäure verbunden hat. Dieser Verdacht wurde bestätigt durch die starke Ammoniakreaction, die das Präparat auf Zusatz von Kalkmilch zeigte, es war aber leider, als das Präparat analysirt wurde, nicht mehr genug für eine quantitative Ammoniakbestimmung übrig. Nehmen wir an, dass ein Atom Stickstoff der obigen Formel dem Ammoniak zukommt

und ziehen wir dies und die zugehörigen 3 Wasserstoffatome ab, so ist die resultierende Formel der freien Säure in guter Uebereinstimmung mit der der ersten besseren Darstellung: $C_{41}H_{60}N_{16}P_4O_{31}$.

Die Kalisalze dieser beiden Präparate waren saure Salze, da ihre wässerigen Lösungen stark sauer gegen Lakmus reagierten. Sie gaben beide, in Wasser gelöst, schwach gelbe Flüssigkeiten, die vereinigt wurden, gegen Lakmus alkalisch gemacht und durch Eingiessen in starken Alkohol ausgefällt wurden, um etwa einen anhaftenden basischen Farbstoff oder eine andere organische Base zu entfernen. Der hierbei entstehende voluminöse Niederschlag wurde abfiltrirt, mit Alkohol gewaschen, wieder in Wasser gelöst, die Lösung mit Kalilauge gegen Phenolphthalein alkalisch gemacht und wieder mit Alkohol niedergeschlagen. Der Niederschlag wurde filtrirt, in Wasser gelöst und die freie Säure durch Zusatz von Zehntelnormal-salzsäure ausgefällt. Es entstand ein flockiger Niederschlag, der sich rasch absetzte und eine zusammenhängende Schicht bildete, die unter Wasser zu Pulver zerrieben wurde, gründlich mit Wasser, verdünntem und absolutem Alkohol gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet wurde. Ausbeute 10,15 g eines Präparates Nr. 3.

Nucleinsäure, Präparat Nr. 3.

	Gefunden:	Atomberechnung:
C	35,41	41,84
H	4,37	62,00
N	16,07	16,28
P	8,75	4,00
K	0,32	—
O	35,08	31,09
	<hr/>	
	100,00	
Asche:	3,52	
PO ₃	3,20	
K	0,32	

Freie Säure = $C_{42}H_{62}N_{16}P_4O_{31}$.

b) Zweite Extraction.

4 Portionen ölfreies Embryonenmehl, jede 12 kg wiegend, wurde jede für sich mit 60 l. Wasser geschüttelt, das Extract

durch grobes Tuch geseiht und während der Nacht zum Absitzenlassen hingestellt. Dann wurde die etwas trübe Flüssigkeit abgehebert, mit Kochsalz gesättigt und mit Salzsäure deutlich sauer gemacht. Der bedeutende Niederschlag wurde abfiltrirt, vom Filter genommen, in Wasser aufgeschwemmt und noch einmal filtrirt. Dann wurde er in 0,2%iger HCl suspendirt, und unter Zufügung von Pepsin 3 Tage bei Zimmertemperatur verdaut. Die ungelöst zurückbleibende Substanz wurde durch Filtration abgetrennt, zweimal durch Aufrühren in Wasser gewaschen, dann mit einem Ueberschuss von Kalilauge und einer grossen Menge Pikrinsäure versetzt. Nach ungefähr einer Stunde wurde mit Essigsäure stark angesäuert, das unlösliche Proteinpikrat abfiltrirt und das klare Filtrat mit starker Salzsäure versetzt, solange noch ein Niederschlag entstand. Der äusserst reichliche flockige Niederschlag setzte sich bald zu Boden und bildete rasch einen dichten Kuchen, der die Form des Gefässes beibehielt, in dem er entstanden war. Als der Niederschlag in ein kleineres Gefäss übergeführt wurde, ehe er zu dicht geworden war, wurde er in 4 runden Kuchen von ungefähr 6,5 cm. Durchmesser und 2,5 cm. Dicke erhalten. Diese 4 Kuchen, die nur ganz wenig Wasser beigemischt enthielten, wogen ungefähr je 100 g und waren so dicht, dass sie fast wie Hartgummi aussahen.

Die rohe Nucleinsäure der beiden zuerst extrahirten Portionen wurde getrennt in einem geringen Ueberschuss von Kalilauge gelöst, eine Operation, die sehr langsam vor sich ging und bei der häufig geschüttelt werden musste, da die Substanz so fest geworden war: dann wurden die erhaltenen Lösungen in starken Alkohol gegossen, der einen Ueberschuss von Salzsäure enthielt. Lösung und Fällung wurden wiederholt und nun war das alkoholische Filtrat des zweiten Niederschlages viel weniger gefärbt wie das des ersten. Die beiden flockigen Niederschläge wurden mit absolutem Alkohol entwässert, über Schwefelsäure getrocknet und gaben eine Ausbeute von 36 g (Präparat 4) und 18 g (Präparat 5).

Die rohe Nucleinsäure der dritten und vierten Portion wurde vereinigt und auf dieselbe Weise behandelt, sie lieferte

28 g (Präparat 6), die gefärbter waren wie 4 und 5 und weniger rein zu sein schienen.

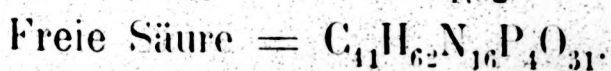
Der saure Alkohol, aus dem die Präparate 4, 5 und 6 gewonnen waren, wurde mit dem doppelten Volumen starken Alkohols versetzt; so konnten noch 10 g (Präparat 7) gewonnen werden, die fast farblos waren.

Natürlich sind die wiederholten Fällungen mit einem grossen Verlust an Nucleinsäure verbunden gewesen, da von den dichten Niederschlägen, die nur wenig Wasser enthielten und fast 400 g wogen, endlich nur 92 g in den 4 oben beschriebenen Präparaten erhalten wurden.

Bei 110° getrocknet, gaben diese 4 Präparate folgende Analysenzahlen:

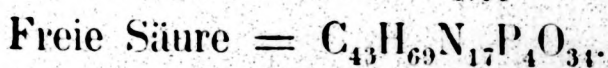
Nucleinsäure, Präparat Nr. 4.

	Gefunden:	Atomrechnung
C	34.37	40.92
H	4.33	61.84
N	16.12	16.44
P	8.69	4.00
K	1.62	0.59
O	34.87	31.12
	100.00	
Asche:	10.73	
PO ₃	9.11	
K	1.62	



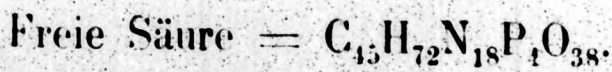
Nucleinsäure, Präparat Nr. 5.

	Gefunden:	Atomrechnung
C	32.92	42.72
H	4.32	66.80
N	15.10	16.68
P	8.02	4.00
K	4.41	1.74
O	35.23	34.04
	100.00	
Asche:	18.98	
PO ₃	14.57	
K	4.41	



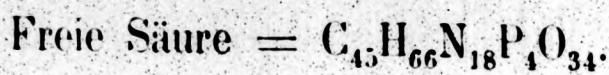
Nucleinsäure, Präparat Nr. 6.

	Gefunden:	Atomrechnung:
C	32.73	44.68
H	4.32	70.76
N	15.55	18.16
P	7.57	4.00
K	2.86	1.20
O	36.97	37.84
	<hr/>	
	100.00	
Asche:	12.95	
PO ₃	10.09	
	<hr/>	
K	2.86	



Nucleinsäure, Präparat Nr. 7.

	Gefunden:	Atomrechnung:
C	34.25	44.76
H	4.15	65.12
N	16.33	18.28
P	7.90	4.00
K	3.25	1.30
O	34.12	33.44
	<hr/>	
	100.00	
Asche:	13.35	
PO ₃	10.10	
	<hr/>	
K	3.25	



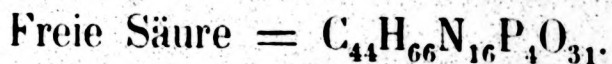
c) Dritte Extraction.

Das Nuclein, aus weiteren 12 kg Embryonenmehl in derselben Weise wie vorher erhalten, wurde durch einen kleinen Ueberschuss von Kalilauge in Lösung gebracht und so lange eine Lösung von doppeltchromsaurem Kali und Essigsäure hinzugesetzt, als noch ein Niederschlag entstand. Dieser wurde abfiltrirt, vom Filter genommen, einmal mit Wasser gewaschen und wieder filtrirt. Filtrat und Waschwasser wurden dann stark mit Salzsäure angesäuert und der äusserst reichliche Niederschlag mit den charakteristischen Eigenschaften der Nucleinsäure wurde gründlich mit Wasser und mit Alkohol

gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet. So wurden 120 g (Präparat Nr. 8) erhalten, die, bei 110° getrocknet, folgende Zusammensetzung hatten:

Nucleinsäure, Präparat Nr. 8.

	Gefunden:	Atomrechnung:
C	36.53	44.60
H	4.51	66.08
N	15.87	16.44
P	8.45	4.00
K	0.52	0.20
O	34.12	31.36
	<hr/>	
	100.00	
Asche:	6.40	
PO ₃	5.88	
	<hr/>	
K	0.52	



Da dies Präparat sämtliche Säure enthält, die überhaupt aus dem Mehl gewonnen werden kann, und da es dieselben Eigenschaften und fast dieselbe Zusammensetzung hat wie die gereinigten Präparate der Säure, so scheint es fast sicher, dass wir es nur mit einer einzigen Nucleinsäure in allen diesen Präparaten zu thun haben.

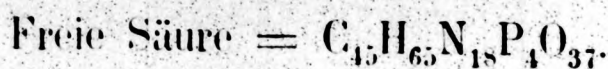
d) Vierte Extraction.

Ein weiteres Präparat von Nucleinsäure wurde dargestellt, indem das Nuclein wie gewöhnlich bereitet und dann mit einer starken Lösung von essigsaurem Natron behandelt wurde, wobei ein Theil der Nucleinsäure als nucleinsaures Natron in Lösung ging. Aus dieser Lösung wurde die Nucleinsäure durch Salzsäure niedergeschlagen und es zeigte sich, dass sie viel weniger Farbstoff enthielt als alle anderen Rohproducte. Der Niederschlag wurde in einem geringen Ueberschuss von Natronlauge gelöst und die erhaltene Lösung in Alkohol gegossen. Dann wurde das nucleinsaure Natron in Wasser gelöst und durch Eingiessen in Alkohol, der überschüssige Salzsäure enthielt, die freie Säure gefällt. Auf diese Weise wurden

200 g Nucleinsäure erhalten, die ein weisses, staubendes Pulver bildeten, das, bei 110° getrocknet, folgende Zusammensetzung hatte:

Nucleinsäure, Präparat Nr. 9.

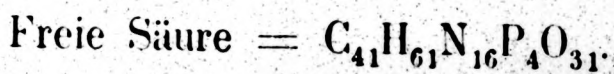
	Gefunden:	Atomberechnung:
C	35.15	44.88
H	3.93	63.60
N	15.59	18.08
P	7.63	4.00
Na	1.42	1.90
O	36.28	36.84
	100.00	
Asche:	17.22	
PO ₃	15.80	
Na	1.42	



Um das Präparat so rein wie möglich zu erhalten, wurden ungefähr 120 g der rohen Säure in einem Ueberschuss von Kalilauge gelöst, 3 g Pikrinsäure zugesetzt und die Lösung mit Essigsäure angesäuert. Der geringe Niederschlag von Proteinpikrat wurde abfiltrirt und die vollkommen klare Lösung durch einen Ueberschuss von Salzsäure gefällt. Die so niedergeschlagene Nucleinsäure wurde mit Wasser gewaschen, wieder in Kalilauge gelöst und die klare Lösung in das fünffache Volumen starken Alkohols gegossen. Der nun entstandene Niederschlag wurde in Wasser gelöst und die Lösung wieder in das fünffache Volumen Alkohol gegossen, der das nucleinsaure Kali niederschlug, während der Alkohol nur leicht gefärbt blieb. Nach Filtration und Auswaschen mit Alkohol wurde das nucleinsaure Kali wieder in Wasser gelöst und nochmals als freie Säure gefällt durch Eingiessen der Lösung in das mehrfache Volumen starken Alkohols, der einen Ueberschuss von Salzsäure enthielt. Hierbei entstand ein sehr voluminöser weisser Niederschlag, der mit Alkohol gewaschen, dann mit absolutem Alkohol entwässert und an der Luft getrocknet wurde. Es hinterblieb ein weisses Pulver von 53 g, das, bei 110° getrocknet, folgende Analysenzahlen lieferte:

Nucleinsäure, Präparat Nr. 10.

	Gefunden:	Atomberechnung:
C	34,65	40,76
H	4,30	60,72
N	15,88	16,00
P	8,70	4,00
K	1,42	—
O	35,05	30,92
	<hr/>	
	100,00	
Asche:	13,71	
PO ₃	12,29	
	<hr/>	
K	1,42	



Das Präparat war chlorfrei und enthielt weder Eisen noch sonst eine anorganische Base, die mit Phosphorsäure ein in alkalischer Lösung unlösliches Salz bildet.

Die Analysen dieser verschiedenen Präparate von Nucleinsäure zeigen weite Unterschiede, ähnlich denen der Analysen, die von den bisher bekannten Nucleinsäuren veröffentlicht worden sind. Dies kommt hauptsächlich daher, dass alle Präparate verschiedene Mengen anorganischer Basen enthalten. Da die Nucleinsäure vielbasisch ist, so bildet sie saure Salze mit Kali und Natron, die unlöslich in Wasser sind, und so kommt es, dass, wenn man versucht, die freie Säure aus einer Lösung ihres Alkalisalzes darzustellen, immer ein Theil als saures Salz ausfällt, aus dem es bisher unmöglich war, sämtliches Alkali zu entfernen.

Rechnet man die empirische Formel aus den Analysen aus, so verschwinden die durch das beigemengte Alkali verursachten Unterschiede und man erhält Formeln, die nicht sehr verschieden sind von denen, die von früheren Untersuchern für Nucleinsäure aufgestellt sind.

In den besser gereinigten Präparaten ist das Verhältniss von Phosphor zu Stickstoff annähernd 4:16, in den weniger reinen ist es grösser, fast 4:18.

Es scheint fast, als ob es ebenso unmöglich wäre, die letzten Reste der organischen Basen zu entfernen wie die der

anorganischen, und dass deshalb fast immer ein Zuviel von Stickstoff vorhanden wäre.

Präparat 3 und 10 waren besonders gereinigt und ihre Analysen werden zweifellos der wahren Zusammensetzung der Nucleinsäure am nächsten kommen. Es muss bemerkt werden, dass das Verhältniss von Phosphor zu Kohlenstoff in Nr. 3 ist: 4 : 42, dagegen in Nr. 10: 4 : 41. Im letzten Präparat ist das Verhältniss von Phosphor zu Stickstoff 4 : 16, im ersten 4 : 16¹/₄. Da in den anderen Präparaten das Verhältniss von Kohlenstoff zu Phosphor wächst mit dem des Stickstoffs, so ist es möglich, dass Präparat Nr. 10 etwas reiner ist als Nr. 3 und dass 41 und nicht 42 Atome Kohlenstoff auf je 4 Atome Phosphor im Molekül der freien Säure kommen.

Wir wollen also die Formel von Präparat Nr. 10 als besten Ausdruck für das Molekül der Triticonucleinsäure annehmen: $C_{41}H_{61}N_{16}P_4O_{31}$.

II. Eigenschaften der Triticonucleinsäure.

a) Löslichkeit in Wasser.

Mit Nucleinsäuren thierischen Ursprungs verglichen, ist die Nucleinsäure des Weizenembryos sehr schwer löslich in Wasser. Löslichkeitsbestimmungen der ersteren existiren nicht in der Litteratur, aber der Gebrauch, die Säuren durch Zugabe von 1 bis 2 Volumina Alkohol, der HCl enthält, auszufällen, zeigt, dass sie in Wasser merklich löslich sind.

Da es schwer ist, Triticonucleinsäure frei von Basen zu bekommen, so ist es nicht möglich, genaue Angaben über ihre Löslichkeit in Wasser zu machen. Keines der obigen Präparate der freien Säure war in kaltem Wasser merklich löslich. In kochendem Wasser bildeten die meisten von ihnen eine teigige Masse, von der sich nur wenig löste.

Ein Präparat, das oben nicht beschrieben ist und das besonders sorgfältig hergestellt war (es enthielt ungefähr 3% NaCl), wenn man es einige Minuten lang mit kochendem Wasser behandelt, fast vollständig in Lösung und reagirte dann sauer gegen Lakmus. Wurde noch einige Zeit weiter gekocht, so

gab seine Lösung nur noch einen leichten Niederschlag mit Salzsäure, der jedoch nicht den eigenthümlichen Charakter der unveränderten Säure hatte. Hiernach scheint es, als ob durch Kochen mit Wasser die Triticonucleinsäure so verändert wird, dass sie nicht länger mehr mit Salzsäure fällbar ist. Möglicher Weise ist freie Triticonucleinsäure, wenn überhaupt, sehr wenig in kochendem Wasser löslich, vielleicht nur in so weit, als sie durch das Kochen verändert und in lösliche Producte umgewandelt wird.

b) Anorganische Salze der Triticonucleinsäure.

Mit Kali, Natron und Ammoniak bildet Triticonucleinsäure Salze, die in Wasser löslich sind.

Kali, Natron und Ammoniak bilden leicht lösliche saure Salze, deren wässerige Lösungen stark sauer gegen Lakmus reagiren.

Triticonucleinsäure ist, wie die von Anderen beschriebenen Nucleinsäuren, löslich in Lösungen von essigsauern Alkalien.

Starke Lösungen von nucleinsauerm Kali werden reichlich gefällt durch Baryum- oder Calciumchlorid (die Niederschläge sind mässig löslich in Wasser), unvollkommen gefällt werden sie durch Lösungen von Magnesiumsulfat. Mit Zinksulfat entsteht ein gelatinöser, voluminöser, weisser Niederschlag, mit Eisenacetat ein leicht röthlicher, dicker Niederschlag, mit Quecksilbernitrat eine dichte, farblose und mit Silbernitrat eine gelatinöse, weisse Fällung.

Mit Kupfersalzen kann man einen blassgrünen Niederschlag erzeugen, der nur einen Theil des Kupfers in der gewöhnlichen Form, als Base gebunden, enthält. So wurde z. B. Nucleinsäure mit gerade der nöthigen Menge Kalilauge in Wasser gelöst, so dass gegen Phenolphthalein neutrale Reaction entstand, und dann mit einer verdünnten Lösung von Kupfersulfat vollkommen ausgefällt. Das nucleinsaure Kupfer wurde abfiltrirt, gewaschen, in Wasser aufgeschwemmt und die auf diese Weise fein vertheilte Substanz in eine reichliche Menge Alkohol, der viel überschüssige Salzsäure enthielt, hineinge-

gossen. Die freie Nucleinsäure wurde abfiltrirt, gründlich mit verdünntem Alkohol gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet. Feucht hatte die Substanz ein sehr blassgrünes Aussehen, trocken erschien sie weiss mit einem eben merklichen Stich ins Grüne. In überschüssigem Ammoniak gelöst, gab sie eine klare gelbe Lösung mit nicht der geringsten Spur von Blau, das sonst von den Kupferammonium-Ionen gewöhnlich verursacht wird. Bei der Veraschung hinterliess das Präparat eine Asche von Kupferphosphat, die 17,43% der trockenen Substanz bildete.

Der Rest des Präparates wurde in Ammoniak gelöst, die Lösung mit Essigsäure angesäuert, Chlorammonium hinzugesetzt und Schwefelwasserstoff durch die Lösung geleitet. Nach Entfernung des Schwefelkupfers wurde die Nucleinsäure mit Salzsäure gefällt und mit unveränderten Eigenschaften wieder erhalten.

Schmiedeberg¹⁾ hat ein ähnliches Verhalten bei der Salmonucleinsäure beobachtet, denn er gibt an, dass die Nucleinsäure niemals kupferfrei erhalten werden konnte durch Fällung mit Salzsäure, auch nicht durch Auflösen in concentrirter Salzsäure. Wurde nucleinsaures Kupfer in Ammoniak gelöst und die Lösung mit Baryumchlorid behandelt, so fand er, dass das gefällte nucleinsaure Baryum noch Kupfer enthielt, das nicht durch Waschen mit Ammoniak entfernt werden konnte.

c) Versuch, nucleinsaures Kali krystallinisch zu erhalten.

Es wurde Triticonucleinsäure in der hinreichenden Menge Kalilauge gelöst, um eine leicht alkalische Reaction gegen Phenolphthalein zu erhalten, soviel Alkohol zugefügt, um eine schwache Trübung zu erzeugen, und die Flüssigkeit über Calciumoxyd verdunsten gelassen. Der entstandene amorphe Niederschlag wurde wieder gelöst und wie vorher behandelt, doch konnten keine Krystalle erhalten werden, selbst nicht nach mehrmaliger fractionirter Fällung. Die Zugabe von mehr

¹⁾ Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 43. S. 57.

Alkohol zu der Flüssigkeit, die von den Niederschlägen abgossen war, und weitere Eindunstung über gebranntem Kalk führten in keiner Fraction zu krystallinischen Körpern.

d) Die Basicität der Triticonucleinsäure.

Durch Fällung einer wässerigen Lösung des sauren Kalisalzes des Präparates Nr. 1 mit Silbernitrat wurde ein Silber-salz dargestellt. Bis zur Gewichtsconstanz über Schwefelsäure getrocknet, wurde seine Zusammensetzung folgendermaassen gefunden:

	Gefunden: Berechnet für $C_{41}H_{55}N_{10}P_4Ag_3O_{11}$:	
Ag	31.62	31.76
P	5.97	6.08

In Uebereinstimmung hiermit wurde gefunden, dass 1,4 ccm. $\frac{1}{10}$ Normalkalilauge gegen Phenolphthalein von 1,4 g des Präparates Nr. 3 neutralisirt wurden und dass bei der Neutralisation des zugefügten Alkalis durch $\frac{1}{10}$ Normalsalpetersäure die Flüssigkeit trübe wurde, wenn noch 3 ccm. des zugesetzten Alkalis nicht von der Salpetersäure gebunden waren. Wurde die Nucleinsäure durch Neutralisation der ganzen Menge des hinzugegebenen Alkalis ausgefällt und die gefällte Säure wieder in $\frac{1}{10}$ Normalkalilauge gelöst, so entstand nach Verbrauch von 3,1 ccm. eine klare Lösung. Da das berechnete Molekulargewicht der Säure 1397 ist, so entspricht die obige Menge Nucleinsäure der Alkalescenz eines Cubikcentimeters $\frac{1}{10}$ Normallauge. Wir sehen also, dass mit 3 Atomen Kali ein lösliches saures Salz gebildet wird und bei etwas mehr als 4 Atomen ein Salz, welches unter den Versuchsbedingungen so dissociirt ist, dass es gegen Phenolphthalein alkalisch reagirt.

Das Salz mit 3 Atomen Kali reagirt gegen Lakmus sauer, das mit 4 Atomen alkalisch.

III. Hydrolytische Spaltungsprodukte der Triticonucleinsäure.

a) Purinbasen.

Die meisten Präparate der Säure gaben, wie schon erwähnt, beim Kochen mit Wasser eine weiche Masse, von der sich wenig löste. Ein Präparat eines sauren Natronsalzes

jedoch, das in kaltem Wasser unlöslich war, löste sich fast vollständig in siedendem Wasser und nach 1½ Stunden gab seine Lösung keine Spur eines Niederschlages mit ammoniakalischem Silberoxyd, obwohl eine beträchtliche Menge von Orthophosphorsäure in Lösung war.

Heisse 1%ige Salzsäure löst Triticonucleinsäure rasch und wenn die Lösung sofort mit ammoniakalischer Silberlösung geprüft wird, so erhält man keinen Niederschlag von Purinbasen. Wird jedoch die 1%ige salzsaure Lösung 30 Minuten lang gekocht, so werden die Basen vollkommen abgetrennt und die Ausbeute wird durch längeres Kochen nicht vergrößert. Diese Befunde beweisen, dass in der Triticonucleinsäure die Basen in esterartiger Verbindung sind, wie Kossel sie in der Thymusnucleinsäure fand, und nicht in salzartiger Bindung, wie Schmiedeberg sie in der Salmonucleinsäure vermuthete.

Längeres Kochen mit stärkeren Säuren vermehrt nicht die Ausbeute der Purinbasen. So gab 1 g des Präparates Nr. 8, 30 Minuten mit 1%iger Salzsäure gekocht, 11,4% Guanin, 90 Minuten mit 1,5%iger Salzsäure gekocht, 11,6% und wenn es 7 Stunden mit 5%iger Schwefelsäure gekocht wurde, lieferte es 11,2%.

Eine beträchtliche Menge Adenin wurde ebenfalls durch Hydrolyse erhalten und zwar in fast äquimolekularem Verhältniss zum Guanin.

Die Identität der beiden Körper wurde durch ihre Reactionen und die Krystallform ihrer Salze bewiesen, die durchaus der Charakteristik entsprachen.

Die Stickstoffbestimmung in den beiden Basen lieferte folgende Zahlen:

Guanin:		Adenin:	
Berechnet:	Gefunden:	Berechnet:	Gefunden:
N	46,04	51,49	51,85

Ein Theil des Adenins wurde als Pikrat analysirt:

	Gefunden:	Berechnet für $C_{11}H_8N_4O_7$:
C	36,07	36,27
H	2,51	2,19
N	30,28	30,79

Die Menge dieser Purinbasen wurde folgendermaassen bestimmt: Es wurde in einem Doppelversuch 1 g des Präparates Nr. 8 (lufttrocken) mit 25 cem. 2%iger Schwefelsäure 30 Minuten gekocht, die Lösung mit Ammoniak alkalisch gemacht und Guanin und Adenin mit einer ammoniakalischen Silberlösung ausgefällt. Nachdem dann der grösste Theil des Ammoniaks und seiner Salze fortgewaschen war, wurde der Niederschlag von den letzten Spuren derselben durch Kochen mit überschüssiger Magnesia befreit. Die Menge des übrig gebliebenen Stickstoffs wurde dann nach Kjeldahl bestimmt und es fanden sich 0,0942 und 0,0950 g N. 1 g lufttrockene Substanz enthält 0,1531 g N, $\frac{1}{16}$ davon ist 0,00957, es sind also $\frac{10}{16}$ des Gesamtstickstoffs an Purinbasen gebunden, eine Menge, die gerade von je einem Molekül Guanin und Adenin in der Nucleinsäure verlangt wird.

Die Menge jeder einzelnen Base wurde dann in einer Reihe von Versuchen in verschiedenen Präparaten wie oben bestimmt, indem das Guanin durch einen Ueberschuss von Ammoniak gefällt wurde. Das Volumen der Lösung war hierbei 100 cem. Nach der Entfernung des Guanins durch Filtration durch Asbest in einem Goochtiiegel wurde das Adenin mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt. Die Niederschläge wurden gewaschen, bis jede Spur von Ammoniak entfernt war, und der Stickstoff mit folgendem Resultate bestimmt:

Purinstickstoff, enthalten in 1 g Triticonucleinsäure:

	4	5	7	8		10		Berechnet für 1 Molek. von jedem.
				I	II	I	II	
Guanin-N	0,0579	0,0572	0,0548	0,0474	0,0463	0,0573	0,0532	0,0500
Adenin-N	0,0494	0,0447	0,0433	0,0441	0,0459	0,0488	0,0459	0,0500
	<u>0,1073</u>	<u>0,1020</u>	<u>0,0981</u>	<u>0,0915</u>	<u>0,0922</u>	<u>0,1061</u>	<u>0,0991</u>	<u>0,1000</u>

Diese Zahlen entsprechen folgenden Mengen Guanin und Adenin:

	4	5	7	8		10		Berechnet für 1 Molek. von jedem.
				I	II	I	II	
Guanin	0,1249	0,1235	0,1182	0,1022	0,0999	0,1235	0,1148	0,1080
Adenin	0,0953	0,0865	0,0835	0,0850	0,0885	0,0941	0,0885	0,0964
	<u>0,2202</u>	<u>0,2100</u>	<u>0,2017</u>	<u>0,1872</u>	<u>0,1884</u>	<u>0,2176</u>	<u>0,2033</u>	<u>0,2044</u>

Die Gesamtmenge des Purinstickstoffs, die in den reinsten Präparaten gefunden wurde, in 4, 5 und 10, ist annähernd dem theoretisch berechneten Betrage gleich, der erforderlich ist, wenn auf je ein Molekül jeder Base 4 Atome Phosphor kommen, in Präparat 7 und 8, die nicht ganz so rein waren, ist die Menge etwas geringer.

Obgleich in diesen Bestimmungen die Menge des Guaninstickstoffs etwas höher sich herausstellte wie die des Adeninstickstoffs, so sind doch die Beträge so ähnlich, dass zweifellos die Basen in äquimolekularem Verhältnisse vorkommen. Die geringen Differenzen werden auf der Schwierigkeit beruhen, die Basen vollkommen zu trennen, da sicher etwas Adenin der Guaninfällung beigemischt ist.

Hiernach will es scheinen, als ob die ganze Menge der Purinbasen leicht aus den Lösungen der hydrolytischen Spaltungsprodukte der Triticonucleinsäure herausgefällt werden könnte und als ob keine solche Schwierigkeiten beständen, wie die von Schmiedeberg¹⁾ beschriebenen, der angibt, dass es ihm nicht möglich war, vollkommen die Silbersalze dieser Basen in Gegenwart anderer Zersetzungsprodukte der Salmonucleinsäure auszufällen. Er bestätigt damit eine Angabe Kossel's,²⁾ nämlich dass Thyminsäure aus Thymusnucleinsäure die Ausfällung von Guanin und Adenin als Silbersalze verhindert.

Schmiedeberg fand ferner, dass ein beträchtlicher Theil einer anderen Substanz zugleich mit den Silberverbindungen der Purinbasen fiel, der beim Verdunsten mit Salzsäure melaninartige Zersetzungsprodukte lieferte.

In unseren Guanin- und Adeninbestimmungen nun haben wir sehr sorgfältig solche Irrthümer vermieden, indem wir den Stickstoff in den Niederschlägen bestimmten und sie nicht zur Wägung brachten, da wir gefunden haben, dass die durch Gewichtsanalyse gefundenen Resultate immer etwas höher waren als die aus dem Stickstoffgehalt berechneten.

1) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 43. S. 58.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXII. S. 74. 1896.

Kossel¹⁾ erhielt eine Verbindung von Guanin mit Ammoniak, die bei 110° beständig war, und man musste an die Möglichkeit denken, dass auch in unseren Versuchen sich solche Verbindung bildete: doch ergab eine Distillation des aus den Bestimmungen von Präparat 10 gewonnenen Guanins mit Natronlauge keine Spur Ammoniak, sodass wahrscheinlich die Ammoniakverbindung des Guanins, wenn überhaupt, so doch nur in sehr kleinen Mengen sich gebildet hat.

Die Bestimmungen machen es beinahe sicher, dass eine gleiche Anzahl Moleküle der 2 Basen in den Präparaten der Nucleinsäure enthalten sind, und da Präparat 8 die ganze Menge der Nucleinsäure des Weizenembryos repräsentirt, während 4, 5 und 10 gereinigte Fractionen der Säuren vorstellen, so sind sicher beide Basen in jedem Molekül der Nucleinsäure vorhanden: weiter sind die Präparate nicht Mischungen zweier Säuren, von denen die eine Guanin, die andere Adenin enthält, denn es ist kaum anzunehmen, dass die beiden Säuren eine so vollkommen gleiche Löslichkeit haben, um nicht durch fractionirte Fällung in merklicher Weise getrennt zu werden.

Durch Behandlung mit Alkali wurde gefunden, dass die Purinbasen nur langsam und unvollkommen abgetrennt wurden. Die Geschwindigkeit, mit der die Basen abgespalten wurden, wurde bestimmt, indem je 1 g Säure mit 100 ccm. Normalnatronlauge verschieden lange gekocht wurde, mit HCl neutralisirt, ein Ueberschuss von ammoniakalischer Silberlösung hinzugefügt, das Purinsilber abfiltrirt, ammoniakfrei gemacht und dann sein Stickstoffgehalt bestimmt wurde. So wurde gefunden, dass die folgenden Procente Purinstickstoff abgespalten wurden:

Nach 1 $\frac{1}{4}$ stündigem Kochen	2.1%
" 4 " " "	17.9%
" 6 " " "	20.0%

Die Zahlen zeigen, dass die Basen durch Alkalien langsamer als durch Säuren abgetrennt werden, ein Resultat, das mit den Beobachtungen von Stokes²⁾ übereinstimmt, der fand,

1) Diese Zeitschrift, Bd. VII, S. 17.

2) Am. Chem. Journ., Bd. 16, S. 123, 1894.

dass in der Amidophenylphosphorsäure der Amidstickstoff in Säuren sehr unbeständig, gegen Alkalien sehr resistent ist, während das Umgekehrte für die Hydroxylbindung der Fall war. Also kann man schliessen, dass die Purinbasen an Phosphor durch Stickstoff und nicht durch Kohlenstoff gebunden sind.

b) Ammoniak.

Kossel und Neumann¹⁾ haben Ammoniak unter den Zersetzungsprodukten der Thymusnucleinsäure gefunden. Wir haben es ebenfalls unter denen der Triticonucleinsäure gefunden, aber nur wenn die Säure einige Zeit mit starker Mineralsäure gekocht war.

So wurde z. B. keine Spur von Ammoniak gefunden, wenn 1 g Säure mit 2% iger Schwefelsäure 30 Minuten lang gekocht wurde und die Flüssigkeit dann mit Magnesia destillirt wurde.

Wurde 1 g mit 12% iger Salzsäure 6½ Stunden lang gekocht, die Lösung dann mit dem doppelten Volumen Wasser verdünnt und mit Phosphorwolframsäure ausgefällt, die Fällung gewaschen, in Natronlauge gelöst und destillirt, so wurden 0,0110 g N als Ammoniak erhalten.

Ein weiteres Gramm, unter denselben Bedingungen gespalten, gab eine Lösung, die, vom grösseren Theil der Salzsäure durch Abdampfen befreit, mit überschüssiger Magnesia destillirt 0,0101 g lieferte.

Zwei 1 g-Portionen Nucleinsäure, mit 12% iger Salzsäure 10 Stunden lang gekocht und die Lösung dann abdestillirt, gaben nach dem Stehen über Nacht 0,0170 resp. 0,0180 g Stickstoff. Dies Ammoniak war zweifellos grösstentheils vom Guanin, Adenin und Uracil gebildet, da wir gefunden haben, dass 0,1 g Guanin, 0,1 g Adenin und 0,16 g Uracil, unter denselben Bedingungen 10 Stunden mit 12% iger Salzsäure gekocht, bei der Ammoniakbestimmung durch Destillation mit überschüssiger Magnesia folgende Mengen von Stickstoff als Ammoniak lieferten:

¹⁾ Ber. Bd. 27, S. 2215, 1894.

Guanin	0,0020 g
Adenin	0,0103 „
Uracil	0,0010 „
Summe	0,0134 g.

Da Kossel¹⁾ behauptet hat, dass Adenin ohne Veränderung stundenlang mit Salzsäure gekocht werden kann, so haben wir diesen Versuch wiederholt, indem wir 0,1 g Adenin mit 20% iger Salzsäure 7 Stunden lang gekocht haben. Hierbei haben wir 0,0100 g N als Ammoniak wiedergefunden.

1 g Triticonucleinsäure wurde mit Normalnatronlauge destilliert unter fortwährendem Ersatz des verdampfenden Wassers. Das erste Destillat, 220 cem., enthielt 0,0180 g N als Ammoniak, fast $\frac{2}{16}$ des gesammten Stickstoffs; das zweite 0,0040, das dritte 0,0043; hierauf fiel der Betrag auf 0,0010 bis 0,0020 g N für jedes Destillat, bis nach 4 Tagen nur noch unbedeutende Spuren sich fanden. Während dieser Zeit waren etwa 8 l. Wasser überdestilliert. Die Summe des N in den Destillaten betrug 0,0742 g oder 46,4% des Gesamtstickstoffs im Nucleinsäuremolekül, äquivalent von mehr als 7 der 16 Atome.

Da Guanin und Adenin nur geringe Spuren Ammoniak lieferten, als wir je 1 g unter denselben Verhältnissen kochten, so scheint es fast sicher, dass auch Uracil, von dem sich, wie wir bald zeigen werden, 2 Moleküle in der Nucleinsäure vorfinden, es nicht thun würde. Es würde dann aussehen, als ob die Atome in den Radikalen, die Guanin, Adenin oder Uracil liefern, unter anderen Bedingungen stehen als im freien Zustande, denn es müssen wenigstens 5 von den 7 Atomen, die als Ammoniak übergegangen sind, dem einen oder anderen dieser Complexe angehört haben.

c) Pyrimidinderivate.

20 g lufttrockener Triticonucleinsäure, die einen Phosphorgehalt entsprechend 16,22 g reiner Säure hatten, wurden in einem Autoclaven 2 Stunden bei 150—160° mit 45 cem. 20% iger Schwefelsäure gekocht. Es blieb dabei eine bedeu-

1) Diese Zeitschrift. Bd. XII. S. 248.

tende schwarze Masse ungelöster Substanz zurück, die mit heissem Wasser behandelt und gründlich gewaschen wurde. Filtrat und Waschwasser wurden dann auf einen Gehalt von 5% Schwefelsäure gebracht und mit Phosphorwolframsäure vollkommen ausgefällt. Der Niederschlag wurde abfiltrirt, mit Wasser gewaschen, in Natronlauge gelöst, wieder mit einem Ueberschuss von Schwefelsäure bis zu 5% der Flüssigkeit gefällt und etwas Phosphorwolframsäure hinzugefügt. Der jetzt erhaltene Niederschlag wurde abfiltrirt, gewaschen und Filtrat und Waschwasser mit dem zuerst erhaltenen vereinigt. Die Flüssigkeit wurde von Phosphorwolframsäure durch Barythydrat befreit und das vom Niederschlag ablaufende Filtrat vom Baryt durch einen kleinen Ueberschuss von Schwefelsäure. Das nun erhaltene Filtrat wurde mit einem Ueberschuss von Silbernitrat versetzt und Ammoniak hinzugesetzt, um die freie Säure zu binden. Der entstandene voluminöse weisse Niederschlag wurde abfiltrirt, mit Wasser gewaschen, mit Schwefelwasserstoff zersetzt, das Silbersulfid entfernt und die Lösung zur Trockne verdampft. Der Rückstand wog 1,78 g, entsprechend 11% der ursprünglichen Säure. Er wurde nun in wenig heissem Wasser gelöst und langsam abkühlen gelassen, wobei eine grosse Menge farbloser Krystalle in mikroskopischen Kugeln und Bündeln von Nadeln sich abschieden. Die Mutterlauge der Krystalle gab bei weiterem Eindampfen eine zweite ähnliche Krystallisation, ebenso die geringe Menge der zweiten Mutterlauge, sodass also eigentlich die ganze Masse von ursprünglich 1,78 g aus dieser Substanz bestand. Mit diesen Krystallen wurde noch ungefähr 0,90 g Substanz vereinigt, die ebenso wie im vorstehenden Versuche gewonnen war, und die gesammte Menge nach Entfärbung mit Thierkohle wiederholt umkrystallisirt. Das reine Präparat schmolz beim raschen Erhitzen unter Zersetzung bei 337° (uncorr.), ein Schmelzpunkt, der gut mit dem von E. Fischer und Hagenbach¹⁾ für Uraeil (336°) bestimmten übereinstimmt.

Die Substanz, bei 110° getrocknet, zeigte bei der Analyse die Zusammensetzung des Uraeils.

¹⁾ Ber. Bd. 34, S. 3751, 1901.

	Gefunden:	Berechnet für $C_4H_4N_2O_2$:
C	43.08. 43.21	42.82
H	3.65	3.59
N	25.09	25.05

Nach den Zahlen kann kein Zweifel daran sein, dass die Substanz Uracil ist, und dass die Triticonucleinsäure in dieser Hinsicht der Nucleinsäure aus Hefe ähnlich ist, in der Ascoli¹⁾ diese Substanz gefunden hat.

Ein Molekül Uracil im Molekül der Nucleinsäure entspricht 8% der letzteren. Im oben beschriebenen Versuche wurden 11% Uracil gefunden, woraus wir schliessen müssen, dass wenigstens 2 Moleküle dieser Substanz im Nucleinsäuremolekül vorhanden sind. Dass die gefundene Menge viel geringer ist als 16%, die für 2 Moleküle erforderlich sind, kann nicht weiter auffallen, wenn man den langen Weg der Darstellung und die massigen Niederschläge der Phosphorwolframsäure und des Barythydrats bedenkt.

Dass Guanin und Adenin, die den Pyrimidinring enthalten, nicht die Lieferanten des Uracils sind, wird durch die Tatsache bewiesen, dass nach Entfernung der Purinbasen durch eine kurze Hydrolyse der Rückstand der Nucleinsäure, weiter der Spaltung unterworfen, Uracil unter seinen Zersetzungsprodukten liefert. Ein weiterer Beweis in dieser Richtung wird darin gesehen, dass Thymusnucleinsäure, die ebenfalls dieselben Basen enthält, kein Uracil, sondern dafür Thymin liefert.

Eine 1%ige wässrige Lösung von so erhaltenem Uracil wird weder durch Phosphorwolframsäure noch durch Barythydrat niedergeschlagen. Mit Bleiacetat und Ammoniak, Silbernitrat oder Quecksilbernitrat gibt es voluminöse weisse Niederschläge, mit Kupferacetat fällt es nicht, selbst nicht nach Hinzufügung eines Ueberschusses von Alkohol.

Wird eine Lösung von Kupferacetat zu einer wässrigen Lösung von Uracil hinzugesetzt und dann tropfenweise verdünnte Natronlauge, so löst sich der zuerst entstandene Nieder-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 161, 1900.

schlag von Kupferhydroxyd wieder auf und eine beträchtliche Menge geht in Lösung, bevor etwas ungelöst zurückbleibt.

Uracil ist viel fester im Nucleinsäuremolekül gebunden als die Purinbasen und konnte in zur Identification genügender Menge erst erhalten werden nach tiefgreifender Spaltung der Säure durch starke Schwefelsäure bei höherer Temperatur oder durch lange ausgedehnte Wirkung sehr starker Salzsäure. Z. B. konnte nach 4stündigem Kochen von 10 g Säure mit 100 ccm. 10% iger Schwefelsäure kein Uracil in der Zersetzungsfüssigkeit gefunden werden, wohl aber war es nach langer Behandlung mit heisser concentrirter Salzsäure in Menge unter den Spaltungsprodukten vorhanden.

d) Die Kohlehydratgruppe.

Wie die anderen, früher beschriebenen Nucleinsäuren reducirt die Triticonucleinsäure nicht Kupferoxyd, selbst nicht nach längerem Kochen mit Salzsäure. Kossel und Neumann¹⁾ fanden unter den Spaltungsprodukten der Thymusnucleinsäure sowohl Ameisen- wie Lävulinsäure, woraus sie schlossen, dass diese Nucleinsäure eine Hexosengruppe enthalte.

In dem Destillat von 10 g Triticonucleinsäure nun, das 7 Stunden lang mit 5% iger Schwefelsäure gekocht wurde, fand sich keine Ameisensäure, auch nicht Lävulinsäure, wenn der Rückstand mit Aether ausgeschüttelt wurde. Wir schliessen daraus, dass in dieser Nucleinsäure keine Hexosengruppe vorhanden ist.

Das durch Kochen mit Säuren erhaltene Destillat enthält dagegen grosse Mengen Furfurol, und in dieser Hinsicht gleicht die Triticonucleinsäure der Nucleinsäure aus Hefe, aus der Kossel²⁾ ebenfalls diese Substanz erhalten hat.

Das Furfurol entwickelt sich langsam und wird selbst nach stundenlangem Kochen im Destillat noch in merklichen Mengen gefunden. Hierin liegt vielleicht eine Erklärung dafür, dass keine Reduction von Kupferoxyd erhalten wird, da der

¹⁾ l. c.

²⁾ Verhandl. der physiol. Gesellschaft zu Berlin, 14. Oct. 1892.

Zucker in dem Maasse, wie er aus der Nucleinsäure gebildet wird, sofort von der Säure weiter zersetzt wird.

Die folgenden Zahlen geben den Betrag von Furfurolphloroglucid an, das von 1 g lufttrockener Nucleinsäure (Präparat Nr. 8) in je aufeinanderfolgenden 500 ccm. Destillat erhalten wurde:

Gewicht des Furfurolphloroglucids:		
	I.	II.
Erstes Destillat	0,2165	0,2325
Zweites „	0,0205	0,0255
Drittes „	0,0180	0,0260
Viertes „	0,0083	0,0100
Summe	0,2633	0,2940

Die Menge des Furfurols wurde aus dem Gewichte des Phloroglucids berechnet durch Division der Beträge, die grösser als 0,2 g waren, durch 1,895 und der kleiner als 0,2 g durch 1,82. Wenn man 0,0104 g von dem in jeder der oben angegebenen Bestimmung gefundenen Furfurol abzieht und mit 1,91 multiplicirt, so erhalten wir 27,5 und 30,6% Xylose in der bei 110° getrockneten Nucleinsäure oder durch Multiplication mit 2,35 33,8 und 37,6% Arabinose. Drei Moleküle Pentose entsprechen 32,2% der Nucleinsäure, und hiermit stimmen die obigen Resultate besser überein als mit der für 4 Moleküle berechneten Zahl. Es ist also wohl unzweifelhaft, dass das Nucleinsäuremolekül 3 Pentosengruppen enthält.

In diesem Zusammenhange ist es interessant, dass Neuberger¹⁾ gefunden hat, dass die im Pankreas vorkommende und wahrscheinlich aus der Guanylsäure stammende Pentose Xylose ist.

Um die obigen Zahlen zu stützen, wurden 2 Portionen zu 1 g lufttrocken von Präparat 4 7 Stunden mit 12% iger Salzsäure destillirt und 0,2520 und 0,2495 g Furfurolphloroglucid erhalten. Diese Mengen entsprechen 25,4 und 25,1% Xylose in der bei 110° getrockneten Nucleinsäure oder 31,2 und 30,9% Arabinose.

¹⁾ Ber. Bd. 35. S. 1467. 1902.

e) Phosphorsäure.

Kossel und Neumann¹⁾ haben gefunden, dass eine wässrige Lösung von Thymusnucleinsäure, 10 Minuten auf dem Wasserbade erhitzt, eine Spaltung erfährt, sodass die Purinbasen vollkommen abgesprengt werden, ohne dass jedoch bei sorgfältiger Ausführung des Versuches Phosphor als Orthophosphorsäure in Lösung geht.

Bei der Triticonucleinsäure kann dies Verfahren nicht angewendet werden, da sie in Wasser nicht löslich ist und beim Erwärmen eine dichte, gummiartige Masse liefert, die dem Wasser nur eine oberflächliche Einwirkung erlaubt. Die Säure ist auch gegen eine hydrolytische Spaltung viel resistenter als Thymusnucleinsäure, da sie mindestens 30 Minuten mit 1½%iger Salzsäure gekocht werden muss, um alle Purinbasen abzuspalten.

Nach 30 Minuten langem Kochen mit 1½%iger Salzsäure oder mit 2%iger Schwefelsäure sind alle Purinbasen entfernt, aber dann enthält die Lösung etwas Orthophosphorsäure. Wurde 1 g des Präparates Nr. 8 30 Minuten mit 2%iger Schwefelsäure gekocht und die Orthophosphorsäure sofort mit Baryt entfernt und ihre Menge in gewöhnlicher Weise bestimmt, so zeigte sich, dass 20,76% der gesamten Phosphormenge der Nucleinsäure durch das Kochen mit Säure in Orthophosphorsäure verwandelt worden war. In einem anderen Versuch wurde die Phosphorsäure sofort mit Ammoniumolybdat niedergeschlagen, der Niederschlag abfiltrirt, um weitere Hydrolyse der Säuren zu vermeiden, und 22,8% Orthophosphorsäure gefunden.

Der zurückbleibende Phosphor scheint grösstentheils in einer complicirten organischen Säure enthalten zu sein, die schwierig zu trennen und zu reinigen ist. Diese Säure entspricht vielleicht der Thyminsäure, die Kossel und Neumann²⁾ aus Thymusnucleinsäure erhalten haben, und der Nucleotinsäure, von der Schmiedeberg glaubt, dass sie aus der Salmo-

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXII, S. 74, 1896.

2) L. c.

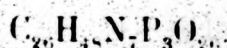
nucleinsäure nach Entfernung der Purinbasen entstände. Doch zeigen die Analysen des Baryumsalzes der aus der Tritico-nucleinsäure erhaltenen Säure, dass sie durch weitergehende Zersetzung der Nucleinsäure gebildet wird, bis der eine Theil des Kohlehydrats und Phosphors in gleicher Weise wie die Purinbasen abgesprengt werden. Die Säure wurde in gleicher Weise erhalten, wie Kossel und Neumann für die Darstellung der Thyminsäure angeben.

Die Nucleinsäure wurde 45 Minuten mit 2%iger Schwefelsäure gekocht und ein genügender Ueberschuss von Barytwasser hinzugegossen, um gegen Phenolphthalein eine deutlich alkalische Reaction zu erhalten. Nach dem Stehen über Nacht wurde der Niederschlag, der Guanin zusammen mit Baryumphosphat und -sulfat enthält, abfiltrirt und zu dem Filtrat 1 1/2 Volumina Alkohol hinzugefügt. So wurde ein sehr voluminöser Niederschlag erzeugt, der sich nur langsam absetzte: er wurde nach dem Stehen über Nacht abfiltrirt, wieder in Wasser gelöst, von dem eine grosse Menge nöthig war, die Lösung vom wenig Ungelösten, hauptsächlich Baryumcarbonat, getrennt und wieder mit 1 1/2 Volumina Alkohol gefällt. Ueber Schwefelsäure bis zur Gewichtconstanz getrocknet, nahm die Substanz beim Trocknen in der Luft bei 100° an Gewicht wieder zu. Es wurden daher drei verschiedene Präparate über Schwefelsäure getrocknet und mit folgenden Resultaten analysirt:

	Nr. 11:	Nr. 12:	Nr. 13:
C	—	20.80	20.72
H	—	3.37	3.19
N	6.52	6.52	6.68
P	5.60	6.08	6.22
Ba	30.65	31.16	30.99.

Mit Säure destillirt, lieferte Präparat Nr. 12 Furfurol, entsprechend 22,7%, Nr. 13 21,3% Pentose, berechnet für das Mittel von Xylose und Arabinose.

Präparat 13 verlor, bei 100° im Wasserstoffstrom getrocknet, 4,28% an Gewicht. Für die freie Säure berechnet, nach Abzug von Wasser und Baryum, ergibt sich aber folgende Formel:



Es ist schon berichtet worden, dass bei kurzer Hydrolyse während der Darstellung dieser Säure sämtliches Guanin und Adenin abgespalten werden und gleichzeitig fast $\frac{1}{4}$ des Phosphors als Orthophosphorsäure erscheint.

Der in den Barytsalzen gefundene Betrag an Pentose entspricht sehr annähernd der Menge, die für 2 Moleküle Zucker auf je 3 Atome Phosphor berechnet ist, so dass also von den drei Pentosengruppen des ursprünglichen Moleküls eine abgesprengt worden ist.

Die in den abgesprengten Radicalen enthaltene Atomsumme ist $C_{15}H_{17}N_{10}PO_6$; diese, von der Formel der ursprünglichen Nucleinsäure abgezogen, gibt einen Rest von $C_{26}H_{45}N_6P_3O_{25}$, der annähernd mit der Formel für die freie Säure $C_{26}H_{48}N_7P_3O_{26}$ übereinstimmt.

Der Ueberschuss von 1 Atom Stickstoff ist wahrscheinlich durch Adenin veranlasst, in dessen Gegenwart das Baryumsalz ausgefällt wurde, denn eine Untersuchung von Präparat 13 ergab das Vorhandensein einer geringen Menge dieser Base. Das Mehr von 3 Atomen Wasserstoff und 1 Sauerstoff wird wahrscheinlich von einem Molekül Wasser herrühren, das bei 100° noch nicht ausgetrieben war. Sind diese Annahmen richtig, so scheint eines der vier Phosphorsäuremoleküle der Triticonucleinsäure an je ein Molekül Guanin, Adenin und eine Pentosengruppe gebunden zu sein, und gerade dieses wird leicht vom Rest des Nucleinsäuremoleküls abgetrennt und gleichzeitig in seine Componenten zerlegt.

In alkalischer Lösung geht die Hydrolyse wesentlich anders vor sich wie in saurer Lösung, wie schon gelegentlich bei den Purinbasen erwähnt wurde, die in saurer Lösung leicht, in alkalischer nur schwierig abgetrennt werden.

Beim Kochen mit Alkalien findet man Orthophosphorsäure äusserst reichlich unter den Zersetzungsprodukten, nebenher nur die beiden Purinbasen, doch können die anderen Bestandtheile der Nucleinsäure leicht wegen ihrer schwierigen Isolirung bei der Untersuchung übersehen werden.

1 g-Portionen Nucleinsäure wurden mit 100 ccm. Normalnatronlauge verschieden lange Zeit gekocht, dann siedend heiss

mit Barytwasser versetzt, der Niederschlag abfiltrirt, mit heissem Wasser gewaschen und in ihm die Menge des Phosphors bestimmt. Weitere Grammportionen wurden in gleicher Weise verschieden lange gekocht, die freien Purinbasen mit Silberoxyd gefällt, in Ammoniak gelöst, dann die Purinsilberverbindungen ammoniakfrei gewaschen und in ihnen der Stickstoffgehalt bestimmt. Die folgenden Zahlen zeigen die Procente des Gesamtphosphors und der Gesamtmenge der Purinbasen, die so durch Kochen während einer bestimmten Zeit abgesprengt worden sind:

	Phosphor:	Purinbasen:
Nach 1 $\frac{1}{4}$ Stunden:	21.5 "	2.1 "
» 4 »	47.0 »	17.9 »
» 8 »	58.3 »	20.0 »

Hiernach will es scheinen, als ob der Theil des Nucleinsäuremoleküls, an den die Purinbasen gebunden sind, weniger leicht durch Alkalien als der andere gesprengt wird.

Fast 25% des Phosphors erscheinen als leicht abspaltbar, da 21.5% schon nach 1 $\frac{1}{4}$ stündigem Kochen erhalten wurden, so dass man daran denken muss, dass eines der vier Phosphoratome der Nucleinsäure unter anderen Bedingungen steht wie die übrigen.

Nach 2stündigem Kochen einer wässrigen Lösung von saurem nucleinsauren Natron, das sich in Wasser mit gegen Lakmus saurer Reaction löst, erschienen 7,35% Phosphor als Orthophosphorsäure, während mit ammoniakalischer Silberlösung keine Spur von Purinbasen gefunden werden konnte.

Dagegen ist aber zu bedenken, dass bei langem Kochen mit Alkali fast die Hälfte des Stickstoffs der Nucleinsäure als Ammoniak entweicht, so dass möglicher Weise ein beträchtlicher Theil der in Freiheit gesetzten Nucleinbasen zerstört worden ist, und ferner, dass die Gegenwart der anderen Zersetzungsprodukte der Nucleinsäure eine Fällung der Purinsilberverbindungen verhindert haben mag, wie es nach Kossel der Fall ist, wenn Thymusnucleinsäure in saurer Lösung gekocht wird.

f. Ein nicht bestimmtes Zersetzungsprodukt der Triticonucleinsäure.

Kossel und Neumann¹⁾ beschreiben als Cytosin ein Zersetzungsprodukt der Thymusnucleinsäure, das durch Phosphorwolframsäure oder durch Silbernitrat bei neutraler Reaction gefällt wurde, aber sein Charakter wurde nicht genau festgestellt, da es schwierig war, eine genügende Menge Substanz zu bekommen.

Wir haben nun auch eine Substanz gefunden, die unter den beschriebenen Bedingungen aus den Lösungen der Zersetzungsprodukte der Triticonucleinsäure ausfällt, bisher haben wir aber noch nicht genug Material zur Identificirung bekommen können. Obwohl der Körper aus seinen Lösungen durch Phosphorwolframsäure niedergeschlagen wird, so kann er doch nicht nachher aus dem Niederschlage durch Zersetzung mit Baryt erhalten werden, da seine Baryumverbindung unlöslich ist und mit dem phosphorwolframsauren Baryum ungelöst zurückbleibt.

Durch Vertheilung des Phosphorwolframsäureniederschlages in angesäuertem Wasser und Ausschütteln mit Aether nach Winterstein's Methode,²⁾ konnte eine kleine Menge eines Körpers, aber in unreinem Zustande, gewonnen werden. Die Zersetzung des Phosphorwolframmiederschlages konnte auf keine Weise vollkommen zu Ende geführt werden, und da sein Volumen so bedeutend war, so war es fast unmöglich, ihn frei von Phosphorsäure zu waschen, die dann in die wässrige Lösung mit hineinging und den basischen Körper verunreinigte, den wir darzustellen versuchten. Das von uns erhaltene Produkt gab mit Pikrinsäure einen gummiartigen Niederschlag, der sich auf Zusatz von mehr Wasser wieder auflöste, nur wurde mit Silbernitrat in neutraler Lösung gefällt, doch enthielten die so erhaltenen Substanzen so viel Silberphosphat, dass sie zur Analyse nicht geeignet waren.

¹⁾ Ber. Bd. 27, S. 2215, 1894.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIV, S. 153, 1901.

g. Melaninartige Zersetzungsprodukte der Triticonucleinsäure.

Schmiedeberg¹⁾ gibt an, dass die Grundsubstanz der Nucleinsäure, das heisst der von den Purinbasen verschiedene Theil, durch eine grosse Neigung zur Melaninbildung sich auszeichne. Er sammelte das schwarze Melanin, das sich beim wiederholten Abdampfen der Nucleinsäure mit Salzsäure gebildet hatte, wusch den Niederschlag mit verdünnter Säure, löste in Ammoniak und fällte die Lösung mit Magnesiainmixtur. Nach dem Abfiltriren der phosphorsauren Ammoniakmagnesia schlug er das Melanin mit Salzsäure nieder und fand in ihm viel Phosphor, so dass er es als phosphorhaltiges Melanin ansah.

Wir haben die Bildung ähnlicher schwarzer Produkte beobachtet, wenn Triticonucleinsäure mit Schwefel- oder Salzsäure gekocht wurde, besonders dann, wenn die Lösung mit der letzten Säure wiederholt eingedampft wurde.

Bei der Zersetzung der Nucleinsäure durch 2stündiges Erhitzen mit 20%iger Schwefelsäure bei 150° wurde eine grosse Menge dieses melaninähnlichen Körpers erhalten, der filtrirt, mit Wasser und absolutem Alkohol gewaschen und bei 110° getrocknet wurde. Dann bildete er ein grobes, schwarzbraunes Pulver, das in einem Falle (a) 24,4%^o, in einem anderen (b) 23,3%^o der Nucleinsäure bildete. Ein anderes Präparat (c) wurde erhalten, indem die Nucleinsäure mit 12%iger Salzsäure 10 Stunden lang gekocht und dann die Lösung auf dem Wasserbade zum Syrup eingeeengt wurde. Der unlösliche Rückstand wurde gründlich mit Wasser und Alkohol gewaschen und bei 110° getrocknet. Das Produkt bildete 16,2%^o der ursprünglichen Säure und erschien in allen Punkten der durch Schwefelsäure erhaltenen Substanz ähnlich. Diese Präparate wurden bei 110° getrocknet und mit folgenden Resultaten analysirt:

	a.	b:	c:
C	62.03	60.57	63.14
H	4.09	3.70	4.36
N	9.63	10.67	5.07
O	24.25	25.06	27.43
	100.00	100.00	100.00

¹⁾ Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 43, S. 57, 1899.

Alle diese Präparate waren phosphorfrei und sicher nicht dieselben wie Schmiedeberg's phosphorhaltiges Melanin. Ihr Betrag war so gross, dass sie unmöglich ihren Ursprung von einer einzigen Componente des Nucleinsäuremoleküls herleiten.

Kossel¹⁾ gibt an, dass Adenin beim Erhitzen mit Zink und Salzsäure zersetzt wird, und dass er aus der so erhaltenen Lösung ungefähr 40% des Adenins als schwarze Masse wieder gewinnen konnte, die 28.8 bis 33% C und 47% N enthielt. Er hielt dies Produkt für ein Gemenge und glaubt, dass es vielleicht einige Beziehung zur Azulinsäure habe. Möglicher Weise sind unsere Melanine Gemenge von ähnlichen Zersetzungsprodukten der Purinbasen und der huminähnlichen Zersetzungsprodukte der Kohlehydrate.

h. Glycerin.

Bang²⁾ hat eine beträchtliche Menge von Glycerin unter den Zersetzungsprodukten der Guanylsäure gefunden. Obwohl wir nun verschiedene Male relativ bedeutende Mengen Triticonucleinsäure auf Glycerin untersucht haben, haben wir es niemals unter den Zersetzungsprodukten gefunden, auch haben wir niemals Reactionen erhalten, die seine Gegenwart hätten andeuten können. Wir können also annehmen, dass Triticonucleinsäure kein Glycerin enthält.

IV. Die Constitution des Moleküls der Triticonucleinsäure.

Es ist bewiesen worden, dass auf 4 Atome Phosphor 16 Stickstoffatome im Triticonucleinsäuremolekül kommen und dass von den bekannten N-haltigen Spaltungsprodukten auf je 4 Phosphoratome 1 Molekül Guanin, 1 Adenin und 2 Uracil kommen. Diese Körper enthalten schon 14 von den 16 Stickstoffatomen und lassen nur noch 2 übrig. Wir haben ferner

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XII, S. 249, 1888.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 416.

bewiesen, dass ein basisches Zersetzungsprodukt entsteht, das in nicht genügender Menge zu bekommen war, und es ist wahrscheinlich, aber nicht bewiesen, dass dies die 2 übrig bleibenden Stickstoffatome enthält.

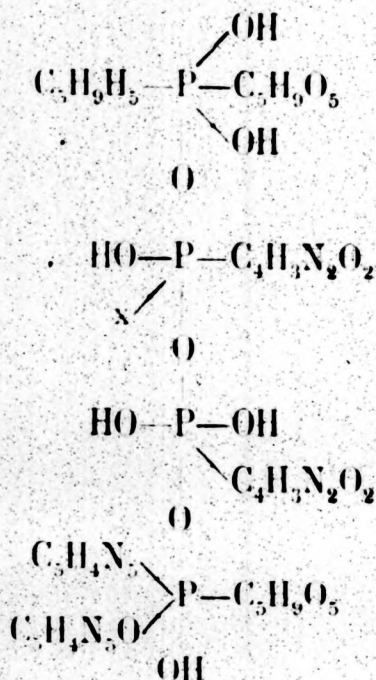
Die Triticonucleinsäure liefert ferner Furfurol, und zwar auf je 4 Atome Phosphor 3 Moleküle Pentose, weiter ein Silbersalz mit 6 Atomen Silber für je 4 Atome Phosphor, woraus wir schliessen, dass 6 Hydroxylgruppen im Molekül vorhanden sind.

Nehmen wir an, dass die 4 Phosphoratome durch 3 Sauerstoffatome verbunden sind, so haben wir folgende Bestandtheile im Molekül der Triticonucleinsäure:

	Molekulargewicht
1 Molekül Guanin $C_5H_5N_3O$	151
1 Adenin $C_5H_5N_5$	135
2 Uracil 2 $(C_4H_4N_2O_2)$	224
3 Pentose 3 $(C_5H_7O_2)$	150
6 Hydroxylgruppen 6 (OH)	102
4 Atome Phosphor 4 P	124
3 Atome Sauerstoff zur Bindung 3 O	48
	1234

Ziehen wir 7 Atome Wasserstoff ab, die eliminirt werden, wenn die 4 zuerst erwähnten Substanzen sich mit der Phosphorsäure verbinden, so haben wir 1227 von den 1397 Gewichtstheilen wiedergefunden, die das Molekulargewicht der Triticonucleinsäure ausmachen, oder 87,8%. Es bleiben also 12,2% un aufgelöster Rest, der wahrscheinlich dem nicht identificirten Zersetzungsprodukt angehört, aber wir können dies bis jetzt noch nicht genügend beweisen.

Wenn wir aber annehmen, dass diese unbekannte Substanz einer einzigen Gruppe angehört, und bezeichnen wir sie mit x, so kann die mögliche Structur der Triticonucleinsäure durch folgende Formel dargestellt werden, in der 4 Atome Phosphor annähernd in ebensolcher Weise verbunden sind, wie Bang es in der Guanylsäure annimmt:



Diese Formel setzt die Vereinigung von 5 $\text{P}(\text{OH})_5$ -Gruppen voraus, die in freiem Zustande unbekannt sind.

Stokes¹⁾ hat jedoch gezeigt, dass die Ester der Pentahydroxylphosphorsäure beständige Körper sind, und aus diesem Grund kann man gegen die obige Formel keinen Einwand erheben. Die Stellung der verschiedenen Gruppen in der Formel ist willkürlich angenommen, mit Ausnahme des Guanins, Adenins und einer Pentosengruppe, die an ein endständiges Phosphoratom gebunden sind, da unsere Resultate zu beweisen scheinen, dass dieses Phosphoratom mit den daran hängenden Gruppen leicht vom Rest des Moleküls abgesprengt werden kann.

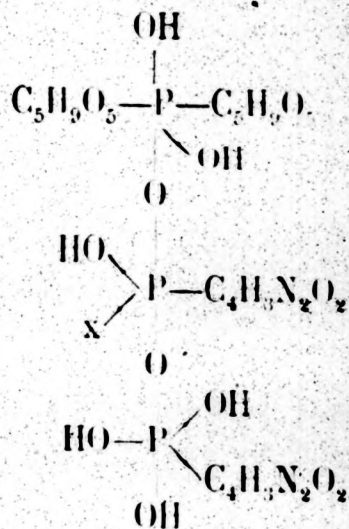
Es wird angenommen, dass Guanin und Adenin an Phosphor durch Stickstoff gebunden sind, weil diese Bindung sich in alkalischer Lösung als viel beständiger als in saurer erwies.

Wir glauben, dass Uracil in gleicher Weise gebunden ist, obwohl es nicht in Einklang steht mit der Schwierigkeit, mit der es vom Nucleinsäuremolekül losgetrennt wird. Wäre das Uracil durch eine Hydroxylgruppe gebunden, so wären 2 Atome Sauerstoff erforderlich und es würde keiner mehr für die Gruppe x übrig bleiben, die vielleicht aber auch gar keinen enthält.

Wir haben bewiesen, dass nach einer kurzen Hydrolyse Guanin, Adenin, 1 Molekül Pentose und 1 Atom Phosphor ab-

¹⁾ Am. Chem. Journ., Bd. 16, S. 123, 1894.

gesprengt werden und dass ein Baryumsalz einer complicirten Säure aus der Lösung erhalten werden kann, deren Zusammensetzung sehr gut auf eine Säure von folgender Structur passt:



V. Die Beziehungen der Triticonucleinsäure zu den früher beschriebenen Nucleinsäuren.

Die Nucleinsäuren thierischen und pflanzlichen Ursprungs haben ähnliche Eigenschaften, und ihre durch die Analyse bestimmte Zusammensetzung ist ziemlich gleich. Alle neueren Untersucher geben an, dass in der empirischen Formel 4 Phosphoratome vorkämen. In Salmo- und Thymusnucleinsäure scheinen 14 Atome Stickstoff auf 4 Atome Phosphor zu kommen: in den andern thierischen Nucleinsäuren ist das Verhältniss nicht genau bestimmt. Bei der Hefenucleinsäure ist das Verhältniss von Stickstoff zu Phosphor von verschiedenen Untersuchern verschieden bestimmt, aber meist höher als in den thierischen Nucleinsäuren angegeben.

Die thierischen Nucleinsäuren enthalten ebenso wie die pflanzlichen sowohl Guanin wie Adenin.

Die Pyrimidingruppe wird in den thierischen Nucleinsäuren, soweit sie bis jetzt untersucht sind, durch Thymin, das ein Methyluracil ist, repräsentirt, in der Hefe- und Weizen-nucleinsäure durch Uracil. In der Thymusnucleinsäure scheint die Kohlehydratgruppe eine Hexose zu sein, in der Hefe- und Weizennucleinsäure eine Pentose. Wir haben so einen deutlichen Unterschied zwischen thierischen und pflanzlichen Nucleinsäuren, doch müssen weitere Untersuchungen lehren, inwieweit er zu Recht besteht.

Ob alle thierischen Nucleinsäuren identisch sind, kann aus den vorliegenden Untersuchungen noch nicht mit Sicherheit geschlossen werden, doch ist es nach Durchsicht der einschlägigen Litteratur sehr wohl möglich. Es ist gleichfalls möglich, dass Hefe- und Weizenmucleinsäure gleich sind, doch müssen auch hier weitere Untersuchungen erst Klarheit verschaffen.

VI. Die Eiweissverbindungen der Triticonucleinsäure.

Die Nucleinsäuren wurden zuerst in Verbindung mit Eiweisskörpern entdeckt und man hielt diese Körper lange Zeit für besonders phosphorhaltige Eiweisskörper, in denen der Phosphor einen Theil des Eiweissmoleküls ausmachte. Obwohl Miescher proteinfreie Nucleinsäure erhalten hatte und Altmann später die Nothwendigkeit betonte, die Nucleinsäuren von ihren Eiweissverbindungen zu unterscheiden, so blieb doch der Einfluss der alten Ansicht von phosphorhaltigen Eiweisskörpern bestehen, und selbst heute scheint er noch nicht verschwunden zu sein, da fast alle Autoren die Nucleinsäuren in enger Gemeinschaft mit den Proteinen abhandeln, als ob die 2 Klassen von Körpern eine chemische Beziehung zu einander hätten.

Da die Nucleinsäuren zweifellos eine besondere Klasse von Phosphorsäureestern vorstellen, die sich leicht mit Eiweisskörpern zu künstlichen Verbindungen vereinigen, die den in den Geweben gefundenen ähnlich, wenn nicht gleich sind, so halten wir es für wichtig, die Bezeichnung phosphorhaltige Proteide zu verlassen, die diesen Verbindungen mit Nucleinsäuren beigelegt worden ist, und besser ihren wirklichen Charakter zu berücksichtigen. Da die Eiweisskörper sich jetzt als basische Substanzen erwiesen haben, so können sie zweifellos wirkliche Salze mit Nucleinsäuren bilden. Miescher fand, dass die Salmonucleinsäure, und wir, dass die Triticonucleinsäure 6basisch ist, sodass wenigstens 6 verschiedene Salze von jeder dieser Säuren mit irgend einem Eiweisskörper gebildet werden können. Da ferner alle Proteine wahrscheinlich vielsäurige Basen sind, so wird die Zahl der möglichen Salze.

die gebildet werden können, noch viel grösser, und wenn Nucleinsäure und Eiweiss in derselben Lösung vorkommen, so kann also eine grosse Anzahl von verschiedenen Salzen gebildet werden, je nach dem Verhältniss, in dem die beiden Körper vorhanden sind und je nach der Natur und dem Verhältniss der anderen gegenwärtigen Säuren und Basen. In Rücksicht hierauf ist es nicht überraschend, dass verschiedene Untersucher Nuclein und Nucleoproteide mit verschiedenem Phosphorgehalt erhalten haben, selbst wenn sie unter scheinbar ähnlichen Verhältnissen gearbeitet haben, auch kann man sich nicht über die augenblickliche Verwirrung auf diesem Gebiete wundern.

Dass in der That eine grosse Anzahl solcher nucleinsäuren Salze unter verschiedenen Bedingungen aus demselben Gewebe erhalten werden kann, wurde von dem Autor¹⁾ beim Studium der Eiweissbestandtheile des Weizenembryos beschrieben. Extracte des ganzen Weizenkorns enthielten eine geringe Menge Globulin und Albumin, die vollkommen phosphorfrei erhalten werden konnten, während gleiche Extracte aus Embryomehl eine viel grössere Menge desselben Globulins und Albumins lieferten, die in den meisten Fällen Phosphor enthielten, dessen Verhältniss von unbedeutenden Spuren bis zu über 3% schwankte. Dieser Phosphor stammte aus der Triticonucleinsäure, da man nur den dem Phosphor entsprechenden Betrag an Nucleinsäure von den Analysen abziehen brauchte, um einen Rest zu bekommen, der die Zusammensetzung des Globulins oder Albumins zeigte, das vorher phosphorfrei aus dem ganzen Weizenkorn erhalten worden war. Durch diese Untersuchung wurde bewiesen, dass eine beträchtliche Menge Nucleinsäure sich mit einem Eiweisskörper verbinden kann, ohne sein Verhalten als Globulin oder Albumin zu verändern. Dass die herrschenden Bedingungen das Verhältniss bestimmen, in welchem sich Nucleinsäure und Eiweiss mit einander verbinden, wird durch das Verhalten des im Folgenden beschriebenen Extracts aufgeklärt.

1) Report Conn. Agric. Expt. Stat. for 1899, ferner Journ. Am. Chem. Soc., Bd. 22, S. 379, 1900.

Frisch bereiteter Extract aus Weizenembryo ist zuerst gegen Lakmus neutral und enthält eine grosse Menge Eiweiss, grösstentheils Albumin und etwas Proteose, zusammen mit viel Nucleinsäure, die durch die reichlich vorhandenen basischen Eiweisskörper in Lösung gehalten wird. Wird diese neutrale Lösung mit Kochsalz gesättigt, so entsteht nur ein sehr geringer Niederschlag, setzt man nun aber eine geringe Menge Säure hinzu, so bildet sich sofort eine bedeutende Fällung, die fast sämtliche Nucleinsäuren enthält. Dieser Niederschlag wird durch den Zuwachs an Säure verursacht, da die löslichen nucleinsauren Salze, die eine beträchtliche Menge basischer Eiweisskörper enthalten, dann nicht länger mehr existiren können. Die gebildeten neuen Verbindungen enthalten viel weniger basisches Eiweiss und sind in der gesättigten Salzlösung oder in Wasser nicht länger löslich. Durch Verdauung des Niederschlages mit Pepsin wird die Menge Eiweiss weiter vermindert und es bilden sich unlösliche Verbindungen, die einer ferneren Einwirkung des Pepsins unzugänglich sind. Diese Produkte, die die charakteristischen Eigenschaften der «Nucleine» haben, sind nur noch Eiweissalze der Nucleinsäure: um sie in ihre Componenten zu zerlegen, ist keine hydrolytische Einwirkung nöthig: die Nucleinsäure kann in Mengen als nucleinsaures Natron entfernt werden durch einfaches Auflösen in essigsaurem Natron und ferner kann das Eiweiss fast sämtlich in pikrinsaures Eiweiss übergeführt werden, indem man Pikrinsäure zu der alkalischen Lösung hinzufügt und mit Essigsäure ansäuert: die Nucleinsäure bleibt dann als nucleinsaures Alkali in Lösung.

Es ist daher durchaus unnöthig, anzunehmen, dass die Bindung zwischen Nucleinsäure und Eiweiss anders wäre wie die zwischen Base und Säure in andern Salzen.

Wir haben schon erwähnt, dass es nucleinsaures Eiweiss gibt, das Globulin oder Albumin ähnlich ist, indem der Charakter des Salzes durch die Natur der Eiweisscomponente bestimmt wird und das Globulin Salze mit ausgesprochenem Globulincharakter, das Albumin solche mit Albumincharakter bildet. In dieser Beziehung verhalten sich die Nucleinsäuren

wie andere Säuren, die in kleinen Mengen mit Eiweisskörpern Verbindungen eingehen, die, wie der Autor an dem Beispiel des Edestins gezeigt hat, die Eigenschaften eines Globulins haben und durch Dialyse oder Abkühlung ihrer warmen concentrirten Lösungen krystallinisch erhalten werden können.¹⁾ Es ist also kein Grund vorhanden, diese Eiweissverbindungen der Nucleinsäure für etwas Anderes zu halten wie die anderen Säuren.

Ob alle die vielen Nucleoproteide, die aus den verschiedensten Zellen und Geweben erhalten worden sind, nucleinsaures Eiweiss sind, kann natürlich ohne besondere Untersuchung der einzelnen Substanzen nicht entschieden werden, aber es ist durchaus nicht unwahrscheinlich, dass es so ist, und es ist sehr wohl möglich, dass die Nucleinsäure in der Zelle in salzähnlicher Bindung vorkommt. Der Mangel an Uebereinstimmung in der Zusammensetzung der vielen Präparate, die von den verschiedenen Untersuchern erhalten worden sind, besonders die grossen Schwankungen im Phosphorgehalt, weisen deutlich auf solchen Zusammenhang hin. Wenn dem so ist, so müssen die aus den Zellen isolirten Produkte nicht auch nothwendiger Weise innerhalb der Zelle existiren, denn die Verhältnisse, in welchen Eiweiss und Nucleinsäure sich miteinander verbinden, hängen von den jeweils gegebenen Umständen ab. Da diese Bedingungen nun während des Lebens fortwährend wechseln, so muss sich auch das nucleinsaure Eiweiss in einem fortwährenden Wechsel befinden, und hierauf beruht zweifellos zu einem grossen Theile ihre hervorragende physiologische Bedeutung.

Die grosse Basicität der Nucleinsäure macht es möglich, dass sie eine Menge chemisch verschiedener Produkte bildet, indem sie viele verschiedene Salze nicht nur mit einem und demselben Eiweisskörper, sondern mit allen basischen Körpern liefert, ebensowohl als complicirte Salze mit verschiedenen, gerade vorhandenen Basen.

¹⁾ Diese Zeitschr. Bd. XXXIII. S. 240; ferner Report Conn. Agric. Expt. Stat. for 1900.

Von dem Vorkommen der Nucleine in der Natur kann fast dasselbe gesagt werden. Die Verbindungen von Protaminen mit Nucleinsäuren sind als Salze betrachtet, seit Miescher sie zuerst entdeckt, und so existiren sie zweifellos in der Zelle. Bei den unlöslichen Eiweissverbindungen, die eine grosse Menge Nucleinsäure enthalten im Vergleich mit den Nucleoproteiden, liegen die Verhältnisse nicht so klar.

Sicher existirt das von uns aus dem Weizenembryo erhaltene Nuclein nicht als solches in den Geweben des Samens, sondern wurde erst während der Darstellung der Nucleinsäure gebildet. Ob das Nuclein, das Miescher durch Pepsinverdauung von Eiterzellen erhalten hat, die er so lange fortsetzte, bis alles Uebrige entfernt war und allein das Nuclein nur wenig, wenn überhaupt, verändert zurückblieb, soweit es sich durch mikroskopische Untersuchung beurtheilen liess, die unveränderte Substanz der Zellkerne vorstellt oder nicht, ist nicht ganz sicher, aber sehr wohl möglich. Cohnheim¹⁾ gibt an, dass die Nucleine als solche in der Natur nicht vorkommen, sondern immer Spaltungsprodukte der Nucleoproteide sind. Er nimmt Kossel's und Lilienfeld's Ansichten an, dass die Nucleoproteide bei der Spaltung Eiweiss und Nuclein liefern, welches letzteres bei weiterer Zersetzung in Eiweiss und Nucleinsäure zerfällt. Wie die Gruppen miteinander verbunden sind, ist unbekannt, aber die bisher bekannten Thatsachen lassen ihn vermuthen, dass Eiweiss und Nuclein salzförmig gebunden sind. Er glaubt jedoch, dass dies noch nicht bewiesen ist und dass die Bildung von Nuclein in dieser Weise nicht erklärt ist.

Uns scheint die Bildung von Nuclein sehr leicht zu erklären, wenn man die Beziehung von Eiweiss zu Säuren ins Auge fasst. Die Eiweisskörper vereinigen sich mit kleinen Mengen Säure zu Salzen, in denen das Eiweissmolekül seine ursprünglichen Eigenschaften unverändert beibehält. So bildet Edestin bestimmte krystallinische Salze mit 1 oder mit 2 Molekülen Salzsäure, und diesen primären Salzen entsprechen

¹⁾ Die Eiweisskörper, Braunschweig 1901, S. 198.

wahrscheinlich viele der Nucleoproteide. Unter dem hydrolytischen Einfluss der Säure nimmt die Säurecapacität des Eiweisses zu und das erste Produkt, das noch dem unveränderten Edestin sehr nahe steht, vereinigt sich mit wenigstens 3 Molekülen Salzsäure.¹⁾ Mit der Bildung der Proteosen wächst die Bindungsfähigkeit, wie längst bekannt, und die Gesamtsäurecapacität der nativen Eiweisskörper, durch Tropäolin angezeigt, beträgt z. B. beim Edestin 20 Atome Salzsäure gegen 2 Atome des unveränderten Edestins. Da die Nucleine immer aus Lösungen erhalten werden, die relativ reich an Säure sind, so ist es sehr wahrscheinlich, dass die Säurecapacität des Eiweisses dadurch stark vermehrt wird, und folglich verbindet sich jedes Molekül mit mehreren der Nucleinsäure und bildet so die als Nucleine bekannten Verbindungen.

Nichts schliesst bei dieser Betrachtung die Möglichkeit aus, dass die Nucleinsäure auch in einer anderen Bindungsform als Salz in der Zelle vorkommt. Es ist sehr wohl möglich, dass auch Ester vorkommen, aber dies ist bisher noch nicht bewiesen.

Die früheren Ansichten, dass Nucleinsäure frei in der Zelle vorkomme, werden jetzt nicht mehr für richtig gehalten und mit Rücksicht auf die grosse Menge Eiweiss, die mit der Nucleinsäure gleichzeitig vorkommt, scheint es ganz unmöglich, dass etwas Säure ungebunden bleiben könnte.

VII. Beziehung der Nucleinsäure zur Guanylsäure.

Die Auffassung der Nucleinsäure als Ester einer complexen Phosphorsäure, die von 4 $\text{P}(\text{OH})_2$ -Gruppen gebildet wird, bringt sie in Beziehung zur Guanylsäure, der Bång eine ähnliche Constitution beigelegt hat. Beide können als Ester einer ähnlichen Phosphorsäure angesehen werden, aber sie unterscheiden sich in vielen wesentlichen Punkten von einander.

Guanylsäure enthält im Gegensatz zu allen wirklichen, genügend erforschten Nucleinsäuren kein Adenin: die Menge

¹⁾ Osborne. Diese Zeitschr. Bd. XXXIII, S. 225; ferner Report. Conn. Agric. Expt. Stat. for 1900, S. 388.

des Guanins ist wesentlich grösser und die Pentose ist wahrscheinlich nicht direkt mit der Phosphorsäure verbunden, sondern mit Glycerin. Man kann die Guanylsäure als Purinester einer Glycerinphosphorsäure bezeichnen, während die Triticonucleinsäure ein gemischter Ester einer Glycophosphorsäure ist.

Solchen bestimmten Differenzen in ihrer Constitution müssen Unterschiede in ihrem physiologischen Verhalten entsprechen. Daher scheint es uns zweifelhaft, ob die Guanylsäure ein Bestandtheil der Zellkerne ist, und wahrscheinlich sind ihre physiologischen Beziehungen ganz von denen der wirklichen Nucleinsäure verschieden.

In dieser Hinsicht ist es wichtig, sich daran zu erinnern, dass Levene¹⁾ aus dem Pancreas eine Säure erhalten hat, die die Eigenschaften einer wirklichen Nucleinsäure hat, die sowohl Guanin wie Adenin in reichem Maasse enthielt, wahrscheinlich auch Thymin, und bei der Analyse ein Atomverhältniss für Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff und Phosphor ergab, das sehr nahe an das von uns für die Triticonucleinsäure gefundene herankommt.

VIII. Die Beziehungen der Nucleinsäure zu den Paranucleinsäuren.

Vor einiger Zeit hat der Eine von uns die Möglichkeit erwogen, dass die physiologischen Phosphorsäuren, die nicht Orthophosphorsäure seien, vielleicht Pentahydroxyphosphorsäure wären, H_5PO_5 , oder ihr erstes Anhydrid $H_8P_2O_9$ ²⁾. Ist dem so, so würden die Nucleinsäuren zu den Paranucleinsäuren in nahe Beziehung treten, da beide dann Ester einer Pentahydroxyphosphorsäure wären.

Ihre genetische Beziehung würde zu der Vermuthung führen, dass auch eine chemische Beziehung zwischen ihnen bestände, denn das unbebrütete Ei, das reichlich Paranucleinsäure aber keine wahre Nucleinsäure enthält enthält, viel von der letzteren nach der Entwicklung des Embryos.

¹⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXXII, S. 541, 1901.

²⁾ Osborne und Campbell, Rep. Conn. Agric. Expt. Stat. for 1899, S. 346, ferner Journal Am. Conn. Soc. 1, 22, S. 413, 1900.

Levene und Alsberg,¹⁾ die Vitellinpräparate aus Eidotter erhielten, die 10% Phosphor enthielten, waren nicht im Stande, das Eiweiss weiterhin abzutrennen, obwohl sie Methoden benutzten, durch die dies leicht erreicht wurde, wenn sie sie auf Eiweissverbindungen wahrer Nucleinsäuren anwendeten. Sie schliessen daraus, dass möglicher Weise der Phosphor in esterartiger Bindung mit dem Eiweiss sich befindet.

Osborne und Campbell berechneten den Phosphor des Vitellins aus Eidotter als PO_4 und fanden, dass der übrigbleibende Rest in seiner Elementarzusammensetzung fast der gleiche war wie der ähnliche Rest des aus ihm entstandenen Paranucleins, selbst wenn der Phosphorgehalt des letzteren über 5mal grösser war, als der des ursprünglichen Nucleins, wie die folgenden Zahlen zeigen.

			PO ₄ frei berechnet:	
	Vitellin	Paranuclein	Vitellin	Paranuclein
C	51.31	45.30	52.59	52.12
H	7.24	6.64	7.42	7.64
N	16.30	14.60	16.70	16.80
S	1.00	0.83	1.03	0.96
P	0.79	4.26	—	—
O	23.36	28.37	22.26	22.48
	100.00	100.00	100.00	100.00

Wenn 4 P(OH)₂-Gruppen in der Paranucleinsäure ebenso verbunden wären, wie wir uns es in der Triticonucleinsäure vorstellen, so würde das Verhältniss von Phosphor zu Sauerstoff 1 : 4¹ sein, das so nahe an PO_4 herankommt, dass die Resultate obiger Berechnung nicht wesentlich geändert würden, wenn die Analysen für frei von P₄O₁₇ ausgerechnet würden statt für frei von PO_4 .

Die Thatsache, dass die Paranucleinsäure des Eidotters, die dem wachsenden Embryo zur Nahrung dient, während der Entwicklung der wahren Nucleinsäure Platz macht, ist ein schwerwiegender Beweis dafür, dass letztere ihren Ursprung der Gegenwart der ersteren verdankt.

Die Versuche von Burian und Schur²⁾ zeigen, dass zwar in der Milch sich nur Spuren von Nucleinbasen finden.

1) Diese Zeitschr. Bd. XXXI. S. 543, 1901.

2) Diese Zeitschr. Bd. XXIII. S. 55, 1897.

trotzdem eine bedeutende Zunahme derselben und ebenso von Nucleinphosphor in den ganzen Thieren Statt hat, die ausschliesslich mit Milch gefüttert werden.

Die Thatsache, dass der Embryo, der sich im Ei entwickelt, mit einer grossen Menge von Paranucleinsäure unter seinen Nährstoffen ausgestattet ist und dass das wachsende Säugethier ebenfalls mit einem reichlichen Ueberschuss davon versehen wird, ist ein wichtiger Umstand, der zeigt, dass die Substanz für den rasch wachsenden Organismus nöthig ist, und da sie in Ueberfluss zu einer Zeit geliefert wird, wenn die Zellkernentwicklung sich im Maximum befindet, so ist es sehr wahrscheinlich, dass die Paranucleinsäure in die Nucleinsäure verwandelt wird, die einen grossen Theil der Zellkerne bildet.

Ob Paranucleinsäure in Pflanzen vorkommt, ist noch nicht bewiesen. Wiman¹⁾ erhielt nach dem Bericht von Hammarsten²⁾ eine Substanz durch Extraction von Erbsen mit verdünntem Ammoniak, die bei Verdauung mit Pepsin verschiedene Ausbeuten eines unlöslichen Produktes lieferte, das Phosphor enthielt, und das er als Paranucleinsäure ansah. Das Produkt gab Spuren von Nucleinbasen, die einer Verunreinigung zugeschrieben wurden. Er schliesst, dass Legumin ein Nucleoalbumin sei, und behauptet, dass das Legumin, das nach den Methoden von Osborne und Campbell und von Ritthausen ebenfalls dieses Paranuclein gibt. Ob die Erbse ein Nucleoalbumin enthält oder nicht, kann aus den unbestimmten Behauptungen, die in dem Referat enthalten sind, nicht erschen werden, und wir bedauern, dass uns die Originalarbeit unzugänglich war. Die Behauptung, dass das nach Osborne und Campbell dargestellte Legumin ein Nucleoalbumin liefert, ist sicherlich unrichtig, denn wir waren nicht im Stande, in den gereinigten Präparaten, die aus verschiedenen Samen dargestellt waren, irgend eine Spur von Phosphor zu finden.

Es ist wohl möglich, dass ein Nucleoalbumin in der Erbse vorkommt, das zugleich mit dem Legumin aus dem Samen durch verdünntes Ammoniak extrahirt wird. Dagegen ist es

¹⁾ Uppsala Läkareförenings förhandlingar N. F., Bd. II, 1897.

²⁾ Jahresbericht für Thierchemie f. 1897.

sicher, dass Legumin, sauber hergestellt, ein wahres Globulin ist und kein Nucleoalbumin, wie Wiman annimmt.

Wahrscheinlich ist es, dass in den Leguminosensamen wahre Nucleinsäure vorkommt zugleich mit Paranucleinsäure, denn diese Samen, die kein wirkliches Endosperm enthalten, bestehen grösstenteils aus einem vergrösserten Embryo, in dem die Functionen des Embryos und des Endosperms solcher Samen wie Weizen vereinigt sind.

Dass Nucleoalbumine reichlich in Samen vorkommen, ist gewiss nicht richtig, und die wiederholte Versicherung, dass es der Fall ist, gegründet auf die unsicheren Versuche von Wiman, hat zu schweren Irrthümern und zu einer grossen Verwirrung in Bezug auf die wahre Natur ihrer Eiweisscomponenten geführt.

IX. Schlüsse

1. Der Weizenembryo enthält eine relativ beträchtliche Menge Nucleinsäure, für die der Name Triticonucleinsäure vorgeschlagen wird. Ungefähr 3.5% des käuflichen Mehls von Weizenembryonen, das in der vorliegenden Untersuchung gebraucht wurde, besteht aus Triticonucleinsäure.

2. Beim Liegen erleidet das Mehl eine Aenderung, sodass die unveränderte Nucleinsäure aus ihm nur in geringen Mengen oder gar nicht mehr erhalten werden kann.

3. Triticonucleinsäure hat die Eigenschaften einer wahren Nucleinsäure thierischen Ursprungs, aber ist weniger löslich in Wasser.

4. Ihre Zusammensetzung entspricht der Formel $C_{41}H_{61}N_{16}P_4O_{31}$. Sie bildet mit Kali, Natron und Ammoniak saure Salze, die leicht in Wasser mit stark saurer Reaction gegen Lakmus löslich sind. Es ist deswegen unmöglich, Präparate der Säure vollkommen basenfrei herzustellen. Der Mangel an Uebereinstimmung zwischen den bisher veröffentlichten Analysen von Nucleinsäuren ist grösstentheils in diesem Umstande zu suchen.

5. Bei der Hydrolyse mit Säuren gibt Triticonucleinsäure 1 Molekül Guanin, 1 Molekül Adenin, 2 Uracil und 3 Pentose

für je 4 Atome Phosphor, ferner ein nicht identificirtes basisches Produkt.

6. Triticonucleinsaures Silber enthält 6 Atome Silber auf je 4 Atome Phosphor, woraus sich schliessen lässt, dass die freie Säure 6 Hydroxylgruppen enthält.

7. Die Constitution der Triticonucleinsäure kann dargestellt werden durch die Vereinigung von 4 $P(OH)_3$ -Gruppen, in denen die 4 Atome Phosphor durch 3 Sauerstoffatome verbunden sind und sämtliche 14 Hydroxylgruppen bis auf 6 durch die vorher aufgezählten Gruppen substituirt sind, sodass ein complicirter Ester einer Pentahydroxylphosphorsäure entsteht, eine Säure, die im freien Zustande unbekannt ist, die aber, wie Stokes gezeigt hat, stabile Ester bildet.

8. Durch kurze Hydrolyse mit verdünnten Säuren wird sämtliches Guanin und Adenin abgespalten und gleichzeitig erscheint ungefähr $\frac{1}{4}$ des gesammten Phosphors als Orthophosphorsäure. Durch verdünnte Alkalien werden die Purinbasen nicht leicht abgesprengt, aber Orthophosphorsäure entsteht rasch und reichlich.

9. Nach einer kurzen Hydrolyse in saurer Lösung bleibt eine complicirte Phosphorsäure zurück, die kein Guanin und Adenin enthält und nur 2 Pentosengruppen für je 3 Atome Phosphor. Die Zusammensetzung ihres Baryumsalzes zeigt, dass sie aus Nucleinsäure gebildet wird, indem ein Phosphoratom abgesprengt wurde, an das Guanin, Adenin und eine Pentose gebunden sind.

10. Die Triticonucleinsäure gleicht den Nucleinsäuren thierischer Herkunft, insofern als sie die Purin-, Pyrimidin- und Kohlehydratgruppe zugleich mit Phosphor enthält. Die Puringruppen sind dieselben in den pflanzlichen und thierischen Säuren, aber in dem letztern wird die Pyrimidin- und die Kohlehydratgruppe durch Thymin und eine Hexose repräsentirt, in dem ersteren durch Uracil und eine Pentose.

11. Die Triticonucleinsäure scheint nahe verwandt und ist vielleicht identisch mit der Nucleinsäure aus Hefe, da beide Uracil und eine Pentose enthalten und dieselbe Zusammensetzung zu haben scheinen.

12. Die Triticonucleinsäure ähnelt der Guanylsäure, insofern beide als complicirte Ester einer Phosphorsäure angesehen werden können, die durch die Vereinigung von 4 $\text{P}(\text{OH})_2$ -Gruppen gebildet wird, aber andererseits zeigen sie scharfe Unterschiede, die verschiedene physiologische Beziehungen andeuten.

13. Die Auffassung der Triticonucleinsäure als ein Pentahydroxyphosphorsäureester lässt eine chemische Beziehung vermuthen, die möglicher Weise zwischen den Paranucleinsäuren und den wirklichen Nucleinsäuren besteht, denn der organische Theil der Paranucleinsäure hat, wie der Eine von uns früher bewiesen hat, fast dieselbe Zusammensetzung wie der organische Theil des Paranucleoproteids, aus dem sie entstanden ist, wie man findet, wenn ihre Analysen PO_4 -frei berechnet werden. 4 $\text{P}(\text{OH})_2$ -Gruppen, durch 3 O-Atome verbunden, enthalten $\text{P} : \text{O} = 1 : 4^1 4$.

14. Die Eiweissverbindungen der Nucleinsäure können als nucleinsaures Eiweiss betrachtet werden, und zwar bilden diejenigen, die wenig Nucleinsäure mit viel Eiweiss enthalten, die Nucleoproteide, diejenigen, die viel Säure und wenig Eiweiss enthalten, die Nucleine. Das Verhältniss, in dem Eiweiss und Nucleinsäure in Bindung treten, wird durch die relative Menge von Basen und Säuren bestimmt, die zu einer bestimmten Zeit in der Lösung vorhanden sind.