

Darstellung und Analyse einiger Nucleinsäuren.

Dritte Mitteilung.

Von

P. A. Levene.

Aus der physiologisch-chemischen Abteilung des pathologischen Instituts der
New-Yorker Staatskrankenhäuser.)

(Der Redaktion zugegangen am 1. April 1903.)

In meiner zweiten Mitteilung über die Analyse der Milz-nucleinsäure wurde berichtet, daß bei der Hydrolyse mit 25%iger Schwefelsäure Thymin und eine Base, welche die Zusammensetzung von $C_4H_5N_3O$ hatte, vorkommen.

Unabhängig von Kossel und Steudel habe auch ich die Vermutung ausgesprochen, daß die Substanz dem Cytosin von Kossel und Neumann ähnlich war, und daß sie möglicherweise ein Aminoxyrimidin darstellte. Nun sind aber mehrere Isomere dieses Körpers möglich, und Kossel und Steudel geben an, daß das Störcytosin von dem Thymuscytosin im Verhalten zum Jodwismuthjodkalium sich unterscheidet. Es war deshalb wünschenswert, die Eigenschaften des Milzcytosins näher zu untersuchen. Da es mir gelang, bei der Verarbeitung einer größeren Menge von Milznucleinsäure außer dem Thymin und Cytosin auch Uracil nachzuweisen, so will ich schon hier die Methode, welche ich zur Trennung der drei Pyrimidin-derivate anwendete, angeben.

Die Basen werden mit Silbernitrat und Barytwasser niedergeschlagen, das Silber mit Schwefelwasserstoff entfernt, und die silberfreie Lösung bei vermindertem Druck eingedampft und etwa 18 Stunden stehen gelassen. Das Thymin scheidet sich dann quantitativ aus. Aus der Mutterlauge wird der vor-

handene Baryt quantitativ mit Schwefelsäure entfernt. Das Filtrat vom schwefelsauren Baryt wurde konzentriert und heiß mit einer gesättigten Pikrinsäurelösung versetzt. Es schied sich bald ein Niederschlag aus, der aus prismatischen Nadeln bestand, er wurde abfiltriert und die Mutterlauge wurde stehen gelassen. Beim Abkühlen entstand ein zweiter Niederschlag, welcher aus krystallischen kugelförmigen Aggregaten bestand. Die zwei Pikrate behielten ihr Aussehen auch beim Umkrystallisieren aus heißem Wasser und schmolzen mit Gasentwicklung bei verschiedenen Temperaturen, nämlich das erste sinterte bei 250 — 255° C. und schmolz bei 275° C., während das zweite schon bei 250 — 255° C. sich zersetzte.

Die Analyse der Pikrate ergab die folgenden Zahlen:

Pikrat I. 0,1590 g der Substanz gaben 33,5 ccm Stickstoff bei p 77,2 und t° 17,5° C.

Pikrat II. 0,1615 g der Substanz gaben 34,0 ccm Stickstoff bei p 76,9 und t° 18,5° C.

Für $C_4H_5N_3OC_6H_2(NO_2)_3OH$

berechnet:

N 24,70 %

gefunden:

Pikrat I. N 24,52 %

Pikrat II. N 24,70 %

Diese Zahlen und Schmelzpunkte wurden erhalten, ohne die Niederschläge umzukrystallisieren.

Wenn das Pikrat aus dem Cytosinsulfat erhalten wird, so krystallisiert es in prismatischen Nadeln und schmilzt bei 275° C. Man ist deshalb zur Annahme, daß Pikrat II unreinigt war, berechtigt.

Die beiden Pikrate wurden in die Sulfate übergeführt und krystallisierten dann ganz gleichförmig in langen prismatischen Nadeln, aus Wasser umkrystallisiert zersetzte sich die Substanz bei schnellem Erhitzen bei 290° C.

Die Analyse der Substanz ergab die folgenden Zahlen:

0,1255 g Substanz gaben 29,0 ccm Stickstoff bei p 76,9 und t° 21° C.

0,1363 Substanz gaben 0,0945 g $BaSO_4$.

Für $(C_4H_5N_3O)_2H_2SO_4$

berechnet:

S 9,71

N 26,33

gefunden:

9,53 %

26,68 %

Die freie Base wurde aus dem Sulfate erhalten, indem man es in Wasser auflöste und die Schwefelsäure quantitativ mit Barytwasser entfernte. Aus heissem Wasser krystallisierte die Base in glänzenden Blättchen. Die Substanz verhielt sich zum Jodwismuthjodkalium wie das Thymuscytosin und ergab bei der Analyse die folgenden Zahlen:

0.4995 g Substanz verloren beim Erhitzen im Toluolbad 0.0710 g.

Für $C_4H_5N_3O, H_2O$

berechnet:	gefunden:
H_2O 13.95 %	14.21 %

0.1080 g der Substanz gaben bei p 16.8 und $t^{\circ} 21^{\circ} C$ 36.00 cem Stickstoff.

Für $C_4H_5N_3O$

berechnet:	gefunden:
N 37.95 %	N 38.36 %

Die Mutterlauge vom Cytosin-Pikrat wurde von der Pikrinsäure mit Schwefelsäure und Äther befreit. Die Schwefelsäure quantitativ mit Barytwasser entfernt und die Lösung unter vermindertem Druck eingedampft. Es schied sich beim Abkühlen ein Niederschlag aus, welcher das Aussehen des Uracils hatte. Aus 1 %iger Schwefelsäure umkrystallisiert und über Schwefelsäure getrocknet, zersetzte sich die Substanz bei $315^{\circ} C$. (auch das Uracil, welches bei der Pankreasautolyse vorkommt, zersetzt sich bei derselben Temperatur).

Die Analyse ergab die folgenden Zahlen:

0.1424 g Substanz gaben 0.2235 g CO_2 und 0.050 g H_2O .

0.1270 g Substanz gaben 27.5 cem Stickstoff bei p 76.9 mm und $t^{\circ} 18.5^{\circ} C$.

Für $C_4H_4N_2O_2$

berechnet:	gefunden:
C 42.82 %	43.80 %
H 3.59 %	3.90 %
N 25.05 %	25.40 %

Das Vorkommen von Uracil im Tierkörper war schon zwar früher beobachtet: es ist mir nämlich vor zwei Jahren gelungen, eine kleine Quantität der Substanz bei der Pankreasautolyse nachzuweisen, und jüngst haben Kossel und Steudel das Uracil bei der Hydrolyse der Thymusnucleinsäure und der Heringstestikeln gewonnen, und mir ist es wieder gelungen.

eine größere Quantität der Substanz bei der Pankreasselbstverdauung aufzufinden.

Wie Kossel und Steudel halte auch ich es für nicht unwahrscheinlich, daß das Uracil nur ein sekundäres Produkt sei, und zwar aus dem Grunde, daß ich nur etwa 1,5 g Uracil erhalten konnte aus einer Menge Nucleinsäure, welche eine Ausbeute von 8 g Thymin und etwa 22 g Cytosin-Pikrat lieferte. Doch kann diese Frage ohne weitere Forschung nicht mit Sicherheit beantwortet werden.

Literatur:

- Kossel und Steudel, Zeitschr. für physiol. Chem., Bd. XXXVII.
Levene, Zeitschr. für physiol. Chem., Bd. XXXII und
Levene, American Journal of Physiology 1903, February.
-