

# **Darstellung und Analyse einiger Nucleinsäuren.<sup>1)</sup>**

(Fünfte Mitteilung.)

Von

**P. A. Levene.**

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

(Der Redaktion zugegangen am 20. Juni 1903.)

## **Pyrimidinbasen der Lebernucleinsäure.**

Zur Darstellung der Lebernucleinsäure kann man dasselbe Verfahren, welches zur Gewinnung der andern Säuren diente, benutzen. Die Reinigung dieser Säure schien aber anfänglich schwieriger als die der Säuren anderer Herkunft, weil sie in Salzsäure nicht ganz unlöslich ist. Doch gelangt man zu biuretfreien Präparaten, wenn man das Kupfersalz in Wasser suspendiert und mit so viel Salzsäure behandelt, daß nur ein Teil des Kupfers entfernt wird. Das saure Kupfersalz wird dann in einer Lösung von Natronlauge und Seignettesalz gelöst und mit Salzsäure vorsichtig niedergeschlagen. Diese Operation muß man bei der Lebernucleinsäure mehreremal wiederholen, um zu reinen Präparaten zu gelangen.

Zur Darstellung der Pyrimidinbasen wurde eine Säure gebraucht, die sich als nicht ganz rein erwiesen hatte. Sie war nicht biuretfrei und enthielt außer der Furfurol gebenden Substanz auch eine Hexose. Man konnte nämlich ein Phenylsazon mit einem Schmelzpunkt von 250° C. erhalten, wenn man die Säure zwei Stunden mit 5% iger Schwefelsäure erhitzte. Ob die Hexose eine Verunreinigung war, oder dem Molekül der Säure zugehörte, sollen weitere Untersuchungen

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr., Bd. XXXI, XXXVII und XXXVIII.

aufklären. Dieser Befund ist hier erwähnt worden, weil es nicht unmöglich ist, daß die Anwesenheit des Zuckers einen Einfluß auf den Verlauf der Hydrolyse ausübt.

Die Säure enthielt aschefrei berechnet 8,08 % P und 14,3 % Stickstoff.

Etwa 140 g dieser Substanz wurden in üblicher Weise mit 25% iger Schwefelsäure im Autoklaven bei 150—175° C. erhitzt und, wie es in der vorigen Mitteilung angegeben war, auf die Pyrimidinbasen verarbeitet. Die Schwefelsäure wurde demgemäß mit Baryt entfernt und das Filtrat bei vermindertem Druck auf etwa 200 ccm eingedampft. Nach 24stündigem Stehen schied sich nur ein kleiner Niederschlag aus. Dieser wurde aus einer 10% igen Schwefelsäurelösung umkrystallisiert und nahm dann das Aussehen des Thymins an. Seine Menge betrug 0,700 g. Zur Analyse wurde er wieder aus verdünnter Schwefelsäure umkrystallisiert, mit Alkohol und Äther gewaschen und im Toluolbad getrocknet.

0,1700 g der Substanz gaben 33,00 ccm N (über 50% KOH-Lösung) bei  $p = 768$  und  $t^{\circ} = 23,5^{\circ}\text{C}$ .

Berechnet für $\text{C}_5\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_2$ :	Gefunden:
N 22,22%	22,58%

Die Mutterlaugen vom Thymin wurden vereinigt, das Baryum mit Schwefelsäure entfernt und das heiße Filtrat mit einer gesättigten Pikrinsäurelösung versetzt, nach 24stündigem Stehen schied sich ein kleiner Niederschlag aus. Das Filtrat wurde dann bei vermindertem Druck auf etwa 300 ccm eingedampft und wieder 24 Stunden stehen gelassen. Es bildete sich ein Niederschlag. Dieser wurde in heißem Wasser gelöst, abgekühlt und sofort filtriert. Mit Alkohol und Äther gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet, betrug dieser Niederschlag etwa 4,0 g.

Zur Analyse wurde er im Toluolbad getrocknet.

0,1280 g der Substanz gaben 27,5 ccm N (über 50% KOH-Lösung) bei  $p = 769$  und  $t^{\circ} = 23,5$ .

Berechnet für $\text{C}_4\text{H}_5\text{N}_3\text{O} \cdot \text{C}_6\text{H}_2\text{NO}_2\text{O}_3\text{OH}$ :	Gefunden:
N 24,70%	25,13%

Das Picrat wurde dann in üblicher Weise in das Sulfat übergeführt, wobei sich das basische Salz ausschied.

0.1230 g der Substanz gaben 0.0490 g BaSO<sub>4</sub>.

Berechnet für $4C_4H_5N_3O \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$ :	Gefunden:
S 5.88%	S 5.43%

Das Sulfat dann in das Chlorplatinat übergeführt.

0.1815 g der Substanz gaben 0.0560 g Pt.

Berechnet für $2C_4H_5N_3O)PtCl_4 \cdot 2HCl$ :	Gefunden:
Pt 30.84%	30.82%

Es lag also Cytosin vor.

Die Mutterlauge von Cytosinpicrat wurde nach Entfernung der Picrinsäure mit Silber und Barytwasser nach Kossel behandelt: es bildete sich dabei ein Niederschlag, welcher in üblicher Weise vom Silber befreit wurde. Das Filtrat vom Schwefelsilber wurde zu einem ganz kleinen Volumen bei vermindertem Druck eingedampft. Es bildete sich dabei ein Niederschlag, welcher aus 2%iger Schwefelsäure umkrystallisiert ein kreideartiges Aussehen hatte, aus mikroskopischen Nadeln in kugelförmigen Aggregaten bestand. Mit Picrinsäure ergab er keinen Niederschlag, und obwohl aus Schwefelsäure umkrystallisiert, enthielt er keine Schwefelsäure. Es lag also wahrscheinlich Uracil vor. Zur Analyse war die Menge zu klein. Die Ausbeute war also:

Thymin	0.700 g
Cytosinpicrat	4.0
Uracil	Spuren

Dieses Verhältnis der Pyrimidinbasen scheint sehr eigentümlich, da in anderen Säuren das Thymin in überwiegender Quantität vorhanden ist. So konnte ich aus der Milznucleinsäure nach demselben Verfahren 15 g Thymin neben etwa 6 g Cytosinpicrat und bei der Pancreasnucleinsäure 5 g Thymin neben 6 g Cytosinpicrat gewinnen, auch bei der Hefenucleinsäure war das Cytosin nicht die in größter Menge vorhandene Pyrimidinbase.

Ob dieses Verhältnis der Pyrimidinbasen durch einen Zufall verursacht war, oder einem Unterschied in der Zusammensetzung der Säuren entsprach, werden weitere Untersuchungen klar stellen.