

# **Darstellung und Analyse einiger Nucleinsäuren.**

## **XI. Mitteilung.**

### **Über die Nucleinsäure der Kuhmilchdrüse.**

Von

**John A. Mandel und P. A. Levene.**

Aus dem chemischen Laboratorium der University und Bellevue Hospital Medical College  
und aus dem Rockefeller Institute for Medical Research, New-York.)

(Der Redaktion zugegangen am 18. August 1905.)

Über die Natur der in der Milchdrüse enthaltenen Nucleinkörper liegen nur wenige Arbeiten vor. Die Untersuchung von Odenius<sup>1)</sup> richtete sich auf die Analyse des Nucleoproteids und führte zu der Annahme, daß der fragliche Körper in seinem Molekül eine Pentose, und nur eine Purinbase — das Guanin enthält. Die Arbeit von Basch<sup>2)</sup> schien den Beweis dafür geliefert zu haben, daß die Nucleinsäure, die aus der Drüse dargestellt werden kann, die Zusammensetzung einer Paranucleinsäure besitzt. Nach der Ansicht dieses Forschers soll sich das Casein der Milch in der Weise bilden, daß die freie Paranucleinsäure der Milchdrüsenzellen sich mit dem Serumweiß zu einer komplizierten Substanz vereinigt.

Die vorliegende Untersuchung beschäftigt sich mit der Zusammensetzung dieser Nucleinsäure, und zwar hat sich dabei ergeben, daß ihre Bestandteile sich von denen der echten Nucleinsäuren nicht unterscheiden.

Die Substanz wurde nach dem Verfahren dargestellt, welches der Eine<sup>3)</sup> von uns kürzlich angegeben hat. Die Drüsen wurden durch Waschen mit kaltem Wasser möglichst vollständig von Milch befreit, zerhackt und mit salzhaltigem Wasser ge-

<sup>1)</sup> Läkaref. Farm. (N. F.), Bd. V, und Malys Jahresber., Bd. XXX.

<sup>2)</sup> Jahrb. f. Kinderheilkunde, 1898, S. 88.

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLV, S. 370.

kocht. Darauf wurde die Säure durch Behandlung mit Alkali extrahiert, durch Essigsäure und Pikrinsäure von Eiweißsubstanzen befreit und dann mit Alkohol gefällt.

Nach dem angegebenen Verfahren gelangte man zu biuret-freien Substanzen.

Zur Analyse wurde das Kupfersalz der Säure benutzt. Nachdem es im Toluolbad zwei Stunden getrocknet war, zeigte es die folgende Zusammensetzung:

#### Präparat I.

0.2150 g Substanz gaben 0.2480 g  $\text{CO}_2$  und 0.0788 g  $\text{H}_2\text{O}$ ; C = 31.40%  
H = 4.07%.

0.1560 g Substanz gaben 0.1790 g  $\text{CO}_2$  und 0.0575 g  $\text{H}_2\text{O}$ ; C = 31.28%  
H = 4.08%.

Das aus 0.5479 g Substanz nach Kjeldahl erhaltene  $\text{NH}_3$  neutralisierte 48.6 ccm  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1 ccm = 0.00162 g N), d. i. N = 14.37%.

0.1432 g Substanz gaben 0.0432 g  $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ; P = 8.49%

0.1859 g Substanz enthielten 0.0500 g Asche = 26.88%.

#### Präparat II.

Das aus 0.1204 g erhaltene Ammoniak neutralisierte 11.1 ccm  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1 ccm = 0.00162 g N), d. i. N = 14.93%.

0.18972 g Substanz gaben 0.0566 g  $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ; P = 8.42%

0.1538 g Substanz enthielten 0.0402 g Asche = 26.13%.

Die folgende Tabelle zeigt die Zusammensetzung der Substanz verglichen mit der in gleicher Weise aus Milz dargestellten Nucleinsäure.

Aus Milz: C 34.94, H 4.57, N 15.30, P 8.15, Cu 7.5%

» Milchdrüse: » 31.34, » 4.07, » 14.65, » 8.48, » 7.00%

Die zwei Präparate unterscheiden sich also nur in dem Gehalt an Kohlenstoff und Wasserstoff. Man darf aber nicht außer acht lassen, daß das Salz mit Alkohol entwässert war, und daß man nicht feststellen kann, wie viel von diesem auch nach dem Trocknen an dem Salz haften blieb.

#### Purinbasen.

35 g lufttrockner Substanz mit einem Phosphorgehalt von 7.35% wurden im Autoklaven mit 200 ccm 2%iger Schwefelsäure zwei Stunden erhitzt. Das Produkt der Hydrolyse wurde filtriert, das Filtrat mit Barytwasser alkalisch gemacht, vom

Niederschlag abfiltriert, der Überschuß von Baryum mit Schwefelsäure entfernt und die Flüssigkeit nach Zusatz von Ammoniak eingedampft. Der dabei gebildete Niederschlag wurde abfiltriert, in wenig Alkali aufgelöst und mit Essigsäure neutralisiert. Es bildete sich dabei ein Niederschlag, der als Guanin zu betrachten war. Es betrug 0,300 g. Für die Analyse wurde er in das Sulfat übergeführt.

Das aus 0,1407 g der lufttrockenen Substanz nach Kjeldahl erhaltene  $\text{NH}_3$  neutralisierte 36,4 ccm Schwefelsäure (1 ccm = 0,00124 g N).

Berechnet für $(\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_5\text{O})_2 \text{H}_2\text{SO}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$ :	Gefunden:
N = 32,11 %	32,07 %

Aus dem Filtrate wurde das Adeninpicrat in üblicher Weise dargestellt. Die Ausbeute betrug 1,3 g. Zur Reinigung wurde die Substanz in kochendem Wasser bei Zusatz von möglichst wenig Alkali gelöst, die Lösung mit Salzsäure genau neutralisiert und das Adeninpicrat abfiltriert, ohne die Flüssigkeit erkalten zu lassen. Im Toluolbade getrocknet, zeigte die Substanz den Schmelzpunkt  $279^\circ \text{C}$ .

Das Filtrat vom Adeninpicrat wurde von Pikrinsäure durch Schwefelsäure und Toluol und Äther befreit, und mit ammoniakalischer Lösung von Silberchlorid behandelt. Es bildete sich dabei ein ganz geringer Niederschlag, der sich nicht zur weiteren Analyse eignete.

### Pyrimidinbasen.

25 g des Kupfersalzes wurden im Autoklaven mit 75 ccm 25%iger  $\text{H}_2\text{SO}_4$  drei Stunden auf  $150\text{--}175^\circ \text{C}$ . erhitzt, das Reaktionsprodukt mit Äther extrahiert, sodann mit heißem Wasser verdünnt: die überschüssige Schwefelsäure mit Barytwasser entfernt und das Filtrat von Baryumsulfat auf ein kleines Volumen eingedampft. Es schied sich dabei ein Niederschlag ab, der hauptsächlich aus Thymin bestand. Einmal aus 2%iger Schwefelsäure umkristalliert, betrug die Ausbeute 1 g Thymin.

Das aus 0,156 g der Substanz nach Kjeldahl erhaltene  $\text{NH}_3$  neutralisierte 21,1 ccm Schwefelsäure (1 ccm = 0,00162 g N).

Berechnet für $\text{C}_5\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_2$ :	Gefunden:
N = 22,22 %	21,91 %

Die Filtrate vom Thymin wurden mit Barytwasser von Schwefelsäure befreit und mit konzentrierter Pikrinsäurelösung versetzt. Der nach 24 Stunden gebildete Niederschlag wurde als Cytosinpikrat in Rechnung gezogen. Er betrug 2 g.

Das Pikrat wurde sodann in das basische Sulfat übergeführt. Die Kristalle hatten das typische Aussehen dieses Salzes. Es wurde dann in Chloroplatinat umgewandelt.

0,1240 g dieses Platinsalzes gaben 0,0388 g Pt.

Berechnet für $2(C_4H_5N_3O) \cdot PtCl_4 \cdot 2HCl$ :	Gefunden:
Pt = 30,84%	31,29%

In der folgenden Tabelle sind Ausbeuten der Basen für 100 g Nucleinsäure berechnet. Daneben sind die Mengen der in gleicher Weise aus Milznucleinsäure erhaltenen Basen angeführt.

	Milznucleinsäure	Nucleinsäure aus Milchdrüse
Adeninpicrat	8,27 g	4,56 g
Guanin	1,62 „	1,05 „
Thymin	5,71 „	5 „
Cytosinpikrat	21,43 „	10 „

#### Kohlehydrate.

Die freie Säure gibt mit Orcinsalzsäure eine violette Färbung und der amylnalkoholische Auszug zeigte die für Pentosen typischen Absorptionsstreifen. Bei Anwesenheit geringer Spuren von Kupfer erhält man bei derselben Behandlung eine tief grüne Färbung. Die Absorptionsstreifen bleiben unverändert. Bei der Destillation mit Salzsäure konnte Furfurol im Destillate durch essigsäures Anilin und Phloroglucin nachgewiesen werden.

Aus der nach Spaltung der Säure mit konzentrierter Schwefelsäure resultierenden Flüssigkeit konnte mit Äther Lävulinsäure extrahiert werden. Aus den für die Pyrimidinbasenanalyse angewandten 25 g der Substanz wurde eine ganz erhebliche Menge des Silbersalzes der Lävulinsäure dargestellt.

Für die Analyse wurde die Substanz einmal aus heißem Wasser unkristallisiert.

0,1640 g des Salzes gaben 0,0795 g Ag.

Berechnet für $C_5H_7O_3Ag$ :	Gefunden:
Ag = 48,43%	48,47%