

Über die Nucleinsäure aus den Spermatozoen des Hamo (Muraenoesox cinereus Forsk).

Von

Katsuji Inouye.

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität zu Kyoto.)
(Der Redaktion zugegangen am 16. Mai 1906.)

Im Anschluß an die vor kurzem von mir publizierte Arbeit,¹⁾ die Zusammensetzung und die Spaltungsprodukte der Darmnucleinsäure betreffend, teile ich die Untersuchungen mit, welche an der Hamonucleinsäure²⁾ angestellt wurden.

Zur Darstellung der Nucleinsäure bediente ich mich der reifen Spermatozoen des Hamo, *Muraenoesox cinereus* Forsk. Das Verfahren war das gleiche wie bei der Darmnucleinsäure.³⁾ Die gereinigte Nucleinsäure stellt eine weiße amorphe, in Wasser fast unlösliche Masse dar. Sie löst sich in Wasser bei Gegenwart von Natriumacetat, besonders leicht in Alkalien. Eine 5%ige Lösung, die mit Hilfe von Natriumacetat hergestellt ist, erstarrt beim Erkalten zu einer festen Gallerte.

Die Hamonucleinsäure läßt sich aus der alkalischen Lösung nicht durch Essigsäure, wohl aber durch Salzsäure ausfällen. Mit Metallen bildet sie Salze; die neutralen Alkalisalze sind in Wasser leicht löslich, während die Schwermetalle meist unlösliche Verbindungen geben. Die Lösung der Alkalisalze und die durch Zusatz von Natriumacetat hergestellte Lösung der freien Säure drehen die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts.

Die Hamonucleinsäure gibt nicht die Farbenreaktionen der Eiweißkörper. Sie erzeugt einen weißen Niederschlag in sauren Lösungen von Albumosen, welcher in verdünnter Salzsäure fast unlöslich ist.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLVI, S. 201.

²⁾ Ich will die Säure der Kürze wegen Hamonucleinsäure nennen.

³⁾ a. a. O.

1. Analyse der Hamonucleinsäure.

Die Ausführung der Analyse erfolgte in derselben Weise wie bei Darmnucleinsäure.

0,1581 g Substanz gaben 0,0620 g H₂O = 4,40 % H
und 0,2169 g CO₂ = 37,42 % C

0,1757 g Substanz gaben 0,0658 g H₂O = 4,19 % H
und 0,2418 g CO₂ = 37,53 % C

0,2162 g Substanz gaben 0,0863 g H₂O = 4,47 % H
und 0,2967 g CO₂ = 37,43 % C

0,3532 g Substanz gaben 0,1358 g H₂O = 4,31 % H
und 0,4873 g CO₂ = 37,62 % C

0,2336 g Substanz gaben 0,0921 g H₂O = 4,42 % H
und 0,3211 g CO₂ = 37,49 % C

0,1777 g Substanz gaben 23,5 ccm feuchten Stickstoffs bei 5,5° C.
und 759 mm B., entsprechend 16,13 % N.

0,2085 g Substanz gaben 28 ccm feuchten Stickstoffs bei 7° C.
und 748,7 mm B., entsprechend 16,06 % N.

0,2053 g Substanz gaben 27 ccm feuchten Stickstoffs bei 5,5° C.
und 765 mm B., entsprechend 16,16 % N.

0,2422 g Substanz gaben 31,5 ccm feuchten Stickstoffs bei 5° C.
und 760 mm B., entsprechend 15,91 % N.

0,1521 g Substanz gaben 20 ccm feuchten Stickstoffs bei 5° C.
und 759 mm B., entsprechend 16,06 % N.

0,2445 g Substanz gaben 0,0858 g Mg₂P₂O₇ = 9,77 % P

0,2697 > > > 0,0929 > > = 9,59 % >

0,1748 > > > 0,0622 > > = 9,90 % >

0,3126 > > > 0,1088 > > = 9,69 % >

0,3203 > > > 0,1114 > > = 9,68 % >

Es wurden gefunden:

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | Mittel |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| | % | % | % | % | % | % |
| C | 37,42 | 37,53 | 37,43 | 37,62 | 37,49 | 37,50 |
| H | 4,40 | 4,19 | 4,47 | 4,31 | 4,42 | 4,36 |
| N | 16,13 | 16,06 | 16,16 | 15,91 | 16,06 | 16,04 |
| P | 9,77 | 9,59 | 9,90 | 9,69 | 9,68 | 9,73 |

Vergleicht man die gefundenen Analysenwerte mit den Zahlen: C 37,54 %, H 4,82 %, M 15,53 %, P 9,37 %, welche ich bei den Analysen der Darmnucleinsäure erhalten habe, so läßt sich nicht verkennen, daß die Zusammensetzung der Hamonucleinsäure die weitgehende Ähnlichkeit mit derjenigen der Darmnucleinsäure zeigt.

2. Spaltung der Hamonucleinsäure.

70 g hamonucleinsaures Natron wurden, wie bei Darmnucleinsäure vorgegangen war, mit 700 ccm 20-volumprozentiger Schwefelsäure 12 Stunden auf dem Sandbade erhitzt, sodann von der abgeschiedenen Huminsubstanz abfiltriert und zu wiederholten Malen mit Äther ausgeschüttelt.

Der ätherlösliche Teil wurde nicht weiter untersucht, da ich bereits erwiesen hatte,¹⁾ daß die Lävulinsäure den wesentlichen Bestandteil desselben bildet.

Der ätherunlösliche Teil wurde mit überschüssigem Baryumcarbonat gekocht, filtriert, das Filtrat auf den Gehalt von 5-volumprozentiger Schwefelsäure gebracht und mit Phosphorwolframsäure ausgefällt.

A. Phosphorwolframsäureniederschlag.

Der Niederschlag wurde nach der Zerlegung mit Barythydrat und der Entfernung des überschüssigen Baryts durch Kohlensäure genau nach dem bei der Darmnucleinsäure beschriebenen Verfahren²⁾ auf Purinbasen und Cytosin verarbeitet. Es wurden gefunden: 0,8231 g Guanin, 1,6238 g Adenin, 0,1211 g Xanthin, 0,2410 g Hypoxanthin und 2,3911 g Cytosin.

1. Guanin. Das Guanin wurde als Sulfat analysiert.

0,1288 g Substanz gaben 36,6 ccm feuchten Stickstoffs bei 5,5° C.
und 768,8 mm B., entsprechend 35,10% N.

| | |
|---|-----------|
| Berechnet für $(C_5H_5N_5O)_2H_2SO_4$: | Gefunden: |
| 35,05% N. | 35,10% N. |

2. Adenin. Das durch Umkrystallisation gereinigte Adeninpikrat, welches die charakteristische Krystallform zeigte, lieferte bei den Analysen die folgenden Zahlen:

0,1862 g Substanz gaben 47,3 ccm feuchten Stickstoffs bei 5,5° C.
und 756 mm B., entsprechend 30,85% N.

0,1800 g Substanz gaben 0,0370 g H_2O = 2,30% H
und 0,2400 g CO_2 = 36,36% C.

| | |
|--|------------------------------|
| Berechnet für $C_6H_5N_5 \cdot C_6H_3N_3O_7$: | Gefunden: |
| 36,26% C, 2,30% H, 30,82% N. | 36,36% C, 2,30% H, 30,85% N. |

3. Xanthin. Die Substanz, die die charakteristischen Reaktionen für das Xanthin gab, wurde in der bekannten Weise ins Nitrat übergeführt und dann zur Analyse verwendet.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 117. — ²⁾ a. a. O.

0,1744 g Substanz gaben 46 ccm feuchten Stickstoffs bei 5° C.
und 769 mm B., entsprechend 32,65% N.

| | |
|--|-----------|
| Berechnet für $C_5H_4N_4O_2 \cdot HNO_3$: | Gefunden: |
| 32,56% N. | 32,65% N. |

4. Hypoxanthin. Das Hypoxanthinnitrat krystallisierte in Wetzsteinformen und erwies sich bei der Analyse als rein.

0,1722 g Substanz gaben 49 ccm feuchten Stickstoffs bei 5,4° C.
und 767,3 mm B., entsprechend 35,08% N.

| | |
|--|-----------|
| Berechnet für $C_5H_4N_4O \cdot HNO_3$: | Gefunden: |
| 35,23% N. | 35,08% N. |

5. Cytosin. Die Substanz war rein weiß und krystallisierte in Blättchen. Die Analysen lieferten die folgenden Werte:

0,2512 g Substanz gaben 0,1035 g H_2O = 4,62% H
und 0,3968 g CO_2 = 43,11% C

0,1753 g Substanz gaben 54 ccm feuchten Stickstoffs bei 6° C.
und 764 mm B., entsprechend 37,74% N.

| | |
|------------------------------|------------------------------|
| Berechnet für $C_4H_5N_3O$: | Gefunden: |
| 43,18% C, 4,54% H, 37,89% N | 43,11% C, 4,62% H, 37,74% N. |

B. Das Filtrat der Phosphorwolframsäurefällung.

Nach der Entfernung der Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure durch Barythydrat und des überschüssigen Baryts durch Durchleiten von CO_2 wurde die Flüssigkeit auf dem Wasserbade stark eingeeengt und stehen gelassen. Aus dieser Flüssigkeit ließ sich ein in Blättchen krystallisierter Körper gewinnen, der alle Eigenschaften des Thymins besaß. Die Ausbeute an diesem Körper betrug 2,0188 g. Die Analysen gaben die folgenden Werte:

0,2012 g Substanz gaben 0,0886 g H_2O = 4,93% H
und 0,3497 g CO_2 = 47,40% C

0,2277 g Substanz gaben 41,5 ccm feuchten Stickstoffs bei 5° C.
und 758,5 mm B., entsprechend 22,25% N.

| | |
|--------------------------------|------------------------------|
| Berechnet für $C_5H_6N_2O_2$: | Gefunden: |
| 47,57% C, 4,80% H, 22,26% N. | 47,40% C, 4,93% H, 22,25% N. |

Der von mir erhaltene Körper war demnach das Thymin.

Bei der Hydrolyse mit Schwefelsäure¹⁾ lieferte die Hamonucleinsäure: Lävulinsäure, Guanin, Adenin, Xanthin, Hypoxanthin, Cytosin und Thymin.

¹⁾ Daß unter den Spaltungsprodukten die Phosphorsäure vorhanden war, habe ich durch einen besonderen Versuch festgestellt.