

Die Zusammensetzung der Nucleinsäuren aus Thymus und aus Heringssperma.

II. Mitteilung.¹⁾

Von

H. Steudel.

(Aus dem physiologischen Institut in Heidelberg.)

(Der Redaktion zugegangen am 22. Juli 1907.)

Durch das Studium der Einwirkung starker Salpetersäure auf Nucleinsäure sind unsere Kenntnisse über die Zusammensetzung und die Struktur des Nucleinsäuremoleküls beträchtlich erweitert worden.²⁾ Dadurch daß ohne weiteres die Alloxurbasen (Guanin und Adenin) als schwerlösliche Nitrate auskrystallisierten, ließen sich die großen Verluste vermeiden, die bei der Gewinnung der Nucleinbasen aus der Zersetzungsflüssigkeit sonst unvermeidlich waren. Die massenhaften Barytniederschläge, z. B. bei der Schwefelsäurespaltung, bedingten nachweislich ein bedeutendes Defizit der Basen und gaben selbst bei oft wiederholtem Auskochen besonders das Guanin nur schwer wieder ab. So war es denn kein Wunder, daß die Menge an Guanin und Adenin, die durch die Salpetersäuremethode gewonnen werden konnte, sehr viel größer war als die früher erhaltenen Quantitäten.

Der nach der Krystallisation der Alloxurbasen noch bleibende Rest lieferte bei weiterer Behandlung Thymin und Uracil. Diese beiden Körper ließen sich durch fraktionierte Krystallisation zwar nicht quantitativ, aber doch qualitativ gut trennen, sodaß endlich sowohl das Thymin wie das Uracil als solches isoliert werden konnten.

In der Thyminfraktion habe ich folgende Werte erhalten:

0,1324 g sättigen, nach Kjeldahl verbrannt, 20,9 ccm $\frac{1}{10}$ -n-Oxalsäure = 22,10% N.

¹⁾ I. Mitteilung, Diese Zeitschrift, Bd. XLIX, S. 406.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLVIII, S. 425; Bd. L, S. 538; Bd. LII, S. 62.

Berechnet für $C_5H_6N_2O_2$:

N = 22,30%.

Gefunden:

N = 22,10%.

Das Uracil lieferte folgende Zahlen:

0,1537 g gaben 0,2462 g CO_2 und 0,0535 g H_2O .0,1596 » sättigen, nach Kjeldahl verbrannt, 28,4 ccm $n/_{10}$ -Oxalsäure.0,1522 » gaben 0,2389 g CO_2 und 0,0513 g H_2O .0,1064 » sättigen 18,9 ccm $n/_{10}$ -Oxalsäure (Kjeldahl).

0,1278 » » 22,6 » » »

Berechnet für $C_4H_4N_2O_2$:

Gefunden:

C = 42,82% 42,70% 42,81%

H = 3,59% 3,80% 3,77%

N = 25,05% 24,92% 24,87% 24,76%

Durch eine kleine Überlegung ließ sich dann auf Grund dieser Befunde zeigen, daß Guanin, Adenin, Thymin und das dem Uracil entsprechende Cytosin in molekularen Mengen in der Nucleinsäure enthalten sein mußten. Die theoretisch verlangten Werte stimmten mit den experimentell gefundenen Zahlen befriedigend überein und als weitere Konsequenz ergab sich nun, daß das Molekül der Nucleinsäure 15 Stickstoffatome enthalten muß, weil die Summe der Stickstoffatome in den Spaltungsprodukten 15 beträgt.

Der nun noch übrige stickstofffreie Teil des Moleküls der Nucleinsäure mußte die Phosphorsäure und das Kohlenhydrat enthalten. Auch über dies letztere gab die Oxydation mit Salpetersäure neuen Aufschluß: kannte man bisher aus der Schwefelsäurespaltung als Abkömmlinge des Kohlenhydrates Ameisensäure und Lävulinsäure, so fand sich bei der Salpetersäuremethode Oxalsäure und Epizuckersäure,¹⁾ $C_6H_{10}O_8$: Beweise genug, daß ein Hexakohlenhydrat in dem noch nicht aufgelösten Rest vorhanden ist.

Die Epizuckersäure liefert mit Chinin ein schön krystallisierendes Salz.

Bei 90° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, wurden folgende Analysenwerte erhalten:

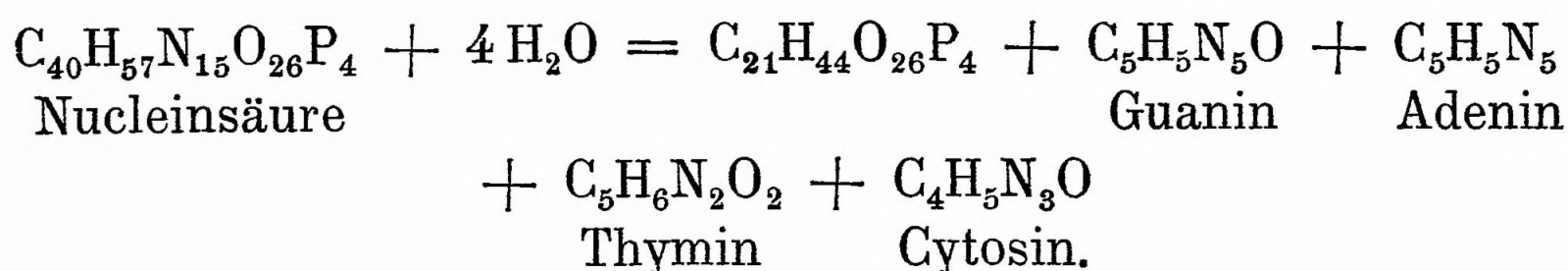
0,1288 g gaben 0,3028 g CO_2 und 0,0820 g H_2O .0,1366 » » 8 ccm N bei $p = 76,0$ cm und $t = 20,5^{\circ}$ ²⁾

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. L, S. 538; Bd. LII, S. 62.

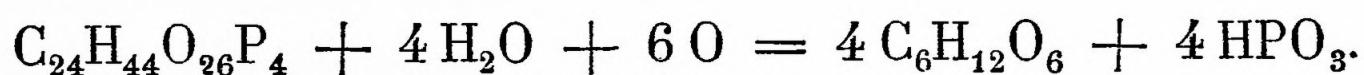
²⁾ Nach Kjeldahl läßt sich das Chinin offenbar nicht veraschen, da man auf diese Weise nur 4,64% in dem gleichen Präparat erhält. (Siehe

Berechnet für $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2C_6H_{10}O_8$:	Gefunden:
C = 64,28%	64,12%
H = 6,81%	7,12%
N = 6,54%	6,74%

Nun muß es aber auffallen, daß die Anzahl der Kohlenstoffatome in dem stickstofffreien Rest der Nucleinsäure $C_{21}H_{44}O_{26}P_4$ nicht durch 6¹⁾ teilbar ist, wenn man die folgende Nucleinsäureformel wählt $C_{40}H_{57}N_{15}O_{26}P_4$.



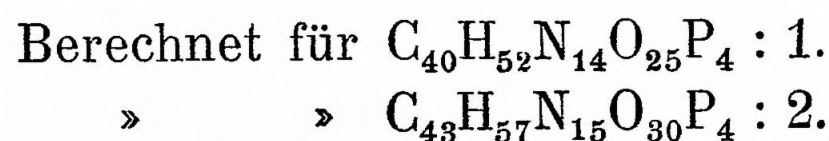
Die Schwierigkeiten würden sofort wegfallen, wenn man die Anzahl der Kohlenstoffatome um 3 vermehrt, dann würde sich der Rest glatt in ein Kohlenhydrat $C_6H_{12}O_6$ und Tetrametaphosphorsäure auflösen lassen:



Man könnte sich also vorstellen, daß die Thymusnucleinsäure resp. die des Fischspermas eine Tetrametaphosphorsäure wäre, die jedem Phosphoratom entsprechend eine Kohlenhydratgruppe besäße, also eine Tetraglykometaphosphorsäure wäre; an diese wäre je ein Molekül Guanin, Adenin, Thymin und Cytosin gebunden.

Bedenkt man, daß die Formel der Nucleinsäure immer sehr geschwankt hat, so erscheint die Änderung im Kohlenstoffwert nicht so ganz willkürlich, besonders da sich die Resultate der vielen Elementaranalysen, die bisher von der Nucleinsäure gemacht sind, sehr wohl auch durch kohlenstoffreichere Formeln ausdrücken lassen.

Folgende Übersicht wird dies leicht zeigen:



Diese Zeitschrift, Bd. LII, S. 62.) Ferner Kutscher, Fr. und Steudel, H., Über die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl, Diese Zeitschr., Bd. XXXIX, S. 12.

¹⁾ Eine Pentose ist in diesen Nucleinsäuren aus Thymus resp. Heringssperma nicht enthalten, da sie bei der Destillation mit HCl nur ganz geringe Mengen Furfurol liefern.

Mittlere Resultate der Analysen { von Miescher-Schmiedeberg¹⁾ : 3.
 eines Präparates { » » »²⁾ : 4.
 Resultate einer Analyse von Kostytschew³⁾ : 5.

Berechnet		Gefunden		
1.	2.	3.	4.	5.
$C_{40}H_{52}N_{14}O_{25}P_4$	$C_{43}H_{57}N_{15}O_{30}P_4$	Miescher-Schmiedeberg	Miescher-Schmiedeberg	Kostytschew
%	%	%	%	%
C = 38,32	37,18	37,32	37,82	—
H = 4,18	4,14	4,21	4,46	—
N = 15,69	15,18	15,24	15,77	15,55
P = 9,90	8,94	9,62	9,17	9,25

Da alle Untersucher darin übereinstimmen, daß es äußerst schwierig ist, eine solche labile, amorphe Substanz wie die Nucleinsäure analysenrein darzustellen, sodaß Schmiedeberg zur Erklärung seiner Analysenresultate schon die kompliziertesten Berechnungen angestellt hat, so wird man auf die Elementaranalysen allein nicht gar zu großen Wert legen dürfen. Ein besseres Urteil über das Molekül wird man hier aus der quantitativen Analyse seiner Bruchstücke gewinnen, wie das Verhalten der Stickstoffatome gezeigt hat.

Selbstverständlich bin ich weit davon entfernt, mich definitiv für die Formel 2 zu entscheiden, dazu müßte vor allen Dingen erst die Menge des Kohlenhydrates quantitativ bestimmt werden. Ebenso mag die endliche Auflösung der Nucleinsäure im einzelnen sich vielleicht noch anders gestalten. Trotzdem halte ich diese Betrachtungen nicht für überflüssig, weil sie zeigen, daß im Prinzip nun doch das große Molekül der Thymus- resp. Spermanucleinsäure aufgelöst ist und weil sie ferner die Richtung angeben, in der sich die weitere Forschung über die Nucleinsäure zu bewegen haben wird.

¹⁾ Nach Cohnheim, Chemie der Eiweißkörper, 2. Aufl., S. 215.

²⁾ Miescher, Arbeiten, II, S. 376.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIX, S. 545.

Da nach den Miescherschen Analysen¹⁾ im Spermatozoenkopf außer in den unorganischen Phosphaten und im Lecithin der Phosphor nur noch in der Nucleinsäure, und zwar hier in der größten Menge vorkommt, so wären jetzt an dieser Stelle von größter biologischer Bedeutung sämtliche Bindungsformen des Phosphors bekannt. Es würde sich die Miescher'sche Ansicht²⁾ bestätigen, daß für die Physiologie des Befruchtungsvorganges chemische Tatsachen als solche nicht das Entscheidende sind, denn es läßt sich bis jetzt nicht einsehen, daß solch ein relativ einfach gebauter Körper wie die Nucleinsäure, den die synthetische Chemie gewiß in kurzer Zeit künstlich wird aufbauen können, an sich Träger wäre auch nur eines Teils der fundamentalen Lebensfunktionen des Spermas. «Die chemischen Tatsachen haben sekundäre Bedeutung; sie sind einem höheren Gesichtspunkt untergeordnet.» Aber wie man z. B. sich ein normal funktionierendes Gehirn nicht ohne einen reichen Lecithingehalt vorstellen kann, ohne deshalb doch das Lecithin als etwas für die Gedanken Wesentliches anzunehmen, so hält es auch schwer, sich die Funktionen des Spermas begreiflich machen zu wollen, ohne dabei ein chemisch wohl definiertes Substrat als materielle Grundlage zu Hilfe zu nehmen.

¹⁾ Arbeiten, II, S. 97.

²⁾ Arbeiten, II, S. 97.
