

Über den Eisengehalt der echten Nucleinsäure.

Von

F. Sauerland.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 22. November 1909.)

In den Nucleoproteiden ist mehrfach Eisen als integrierender Bestandteil des Moleküls aufgefunden worden. Lubat¹⁾ hat zuerst beobachtet, daß das Paranuclein aus Milchcasein eisenhaltig war: dann hat Bunge²⁾ aus dem Eidotter ein eisenhaltiges Paranuclein dargestellt (Hämatogen). Zaleski³⁾ isolierte aus der Leber einen ähnlichen Körper, das Hepatin, und Hammarsten⁴⁾ konstatierte die Anwesenheit von Eisen in seinem Nucleoproteid aus Pankreas. In allen diesen Substanzen war eine festere Verbindung des Eisens mit dem phosphorhaltigen Grundkomplex anzunehmen, entweder durch eine organische Bindung, oder bedingt durch ein eigentümliches Verhalten der Metaphosphorsäure, das zuerst von Ascoli⁵⁾ bei der Untersuchung der eisenhaltigen Plasminsäure beobachtet wurde.

Auf Grund dieser Angaben hat sich nun die Anschauung entwickelt, daß auch die echten Nucleinsäuren eisenhaltig seien.⁶⁾

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. X, S. 2237. Ref. v. S. Wagner (1877).

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. IX, S. 49 (1885).

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. X, S. 453. — Siehe auch: Schmiedeb^{erg}. Arch. f. experim. Path. u. Pharm., Bd. XXXIII, S. 101 (1894). — Wohlgemuth, Diese Zeitschrift, Bd. XXXVII, S. 475 (1902/03), und Bd. XLII, S. 519 (1904). — Scaffidi, Diese Zeitschrift, Bd. LIV, S. 448 (1907). — Salkowski, Diese Zeitschrift, Bd. LVIII, S. 282 (1908/09), und Bd. LIX, S. 19 (1909). — Capezzuoli, Diese Zeitschrift, Bd. LX, S. 10 (1909).

⁴⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XIX, S. 12 (1894).

⁵⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXVIII, S. 426 (1899).

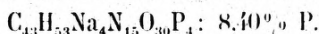
⁶⁾ Z. B. Neumann und Mayer, Diese Zeitschrift, Bd. XXXVII, S. 147 (1902/03): »Thymusnucleinsäure enthielt sehr deutlich nachweisbare Mengen Eisen.«

Eine endgültige und genaue Feststellung des eventuellen Eisengehaltes der echten Nucleinsäuren war um so notwendiger, als die sämtlichen Berechnungen und die aus ihnen gezogenen Schlußfolgerungen Steudels über die Konstitution der echten Nucleinsäure auf einer eisenfreien Substanz basieren. Es wurde also im folgenden versucht, das Eisen in der Nucleinsäure nicht nur qualitativ, sondern auch quantitativ zu bestimmen.

Als Untersuchungsmaterial diente erstens: Nucleinsaures Natron aus Kalbsthymus, das nach der Neumannschen Methode dargestellt war. Für die qualitativen Prüfungen wurde eine Messerspiß-Substanz mit Soda und Salpeter im Porzellantiiegel verascht, und die Schmelze nach dem Ansäuern mit Salpetersäure und kurzem Sieden mit Ferrocyankalium resp. Rhodankalium versetzt. Hierbei zeigte sich aber immer nur eine schwache Grünfärbung der Ferrocyanaliprobe, resp. eine leichte Blabrosafärbung der Rhodankaliprobe. Bei dem Versuch, das Eisen in ca. 1 g der Substanz nach vorheriger Entfernung der Phosphorsäure mit molybdänsaurem Ammoniak quantitativ als Eisenoxyd zu bestimmen, konnten wägbare Mengen von Fe_2O_3 überhaupt nicht erhalten werden. Die Phosphorsäurebestimmung, die in diesen Proben nebenbei ausgeführt wurde, ergab folgende Zahlen:

1,0301 g Substanz gaben	0,3010 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$,	entsprechend	8,13% P
1,0075 »	» 0,3140 »		8,67% P

Berechnet für neutrales nucleinsaures Natron:



Da es sich, wenn überhaupt, offenbar nur um ganz geringe Mengen von Eisen handeln konnte, wurde nun versucht, bessere Resultate mit der jodometrischen Eisenbestimmung zu erhalten, die von Neumann¹⁾ zum Nachweis geringer Eisenmengen angegeben ist.

Es wurde ca. 1 g Substanz (genau gewogen) mit dem Neumannschen Säuregemisch verascht und die Analyse lieferte folgende Werte:

¹⁾ Hoppe-Seyler-Thierfelder, Handbuch der physiolog. und patholog. chem. Analyse, VII. Aufl., S. 398 (1903); VIII. Aufl., S. 546 (1909).

1.0012 g Substanz verbrauchen 1.1 ccm Thiosulfatlösung
entsprechend 0,00028 g Fe, d. h. 0,028% Fe.

1.0007 g Substanz verbrauchen 1.15 ccm Thiosulfatlösung
entsprechend 0,0003 g Fe, d. h. 0,03% Fe.

Dieser Eisenwert bleibt weit zurück hinter dem Wert, der verlangt wird, wenn man auch nur 1 Atom Eisen im Molekül der Nucleinsäure annimmt. Legt man z. B. der Berechnung die Formel $C_{43}H_{55}FeN_{15}O_{30}P_4$ zugrunde, die ein Molekulargewicht von 1441,5 ergeben würde, so wären 3,89% für 1 Atom Eisen verlangt. Gefunden wäre also nur $\frac{1}{100}$ vom theoretisch berechneten Werte, und es ist wahrscheinlich, daß diese kleine Menge Eisen gar nicht dem Molekül der Nucleinsäure angehört, sondern eine Verunreinigung ist, besonders, da bei der Darstellung der Nucleinsäure keine Vorsichtsmaßregeln getroffen waren, um sie absolut frei von jeder Verunreinigung mit Eisen zu bekommen.

Übrigens spricht auch schon das geringe spezifische Gewicht der Nucleinsäure a priori gegen einen größeren Eisengehalt, wie er vorhanden sein müßte, wenn auch nur ein Atom Eisen im Nucleinsäuremolekül enthalten wäre.

Ebensowenig wie bei dem nucleinsauren Natron aus Kalbsthymus sprachen die Analysen von freier Nucleinsäure aus Heringssperma für einen Eisengehalt. Auch hier waren die qualitativen Resultate schon zweifelhaft, quantitativ wurden dieselben Werte gefunden wie bei dem zuerst untersuchten Präparat.

0,9919 g Substanz verbrauchen 0.7 ccm Thiosulfatlösung
entsprechend 0,00020 g Fe, d. h. 0,02% Fe.

1.0005 g Substanz verbrauchen 0.83 ccm Thiosulfatlösung
entsprechend 0,00021 g Fe, d. h. 0,021% Fe.

Ein anderes Präparat von nucleinsaurem Natron aus Kalbsthymus, das ebenfalls nach Neumanns Methode dargestellt war, ergab dieselben zweifelhaften qualitativen Proben, sodaß auf eine quantitative Untersuchung verzichtet wurde. Endlich wurde bei dieser Gelegenheit noch ein viertes Präparat auf seinen Eisengehalt geprüft, das aus den isolierten Köpfen von Heringsspermatozoen bestand und sich äußerlich als ein feines, lockeres, schneeweißes Pulver präsentierte; auch

hier fielen die qualitativen Proben so zweifelhaft aus, daß eine quantitative Untersuchung gar nicht erst vorgenommen wurde.

Es läßt sich also wohl mit Sicherheit der Schluß ziehen, daß die reine Nucleinsäure eisenfrei ist. Die aufgefundenen geringen Spuren, wenn sie nicht überhaupt der Methode zur Last fallen, sind nur zufällige Verunreinigungen der Präparate gewesen.

Auf Grund dieser Resultate kann man nun die Frage aufwerfen, wo denn überhaupt in den Nucleoproteiden das Eisen zu suchen ist, wenn es sich nicht in der Nucleinsäurekomponente befindet. Konsequenterweise müßte man die Existenz eisenreicher Eiweißkörper annehmen, die um so merkwürdiger wären, als in manchen von ihnen das Eisen nur ganz locker gebunden wäre. So gibt z. B. Bang¹⁾ an, daß das Pancreasnucleoproteid schon bei der Behandlung mit schwachem Alkali im siedenden Wasserbade das Eisen als Eisenoxydhydrat abspaltet. Ähnliches hat Salkowski²⁾ beobachtet, der den Eisengehalt des Nucleoproteids aus Leber stark schwankend fand. Diese leichte Abspaltbarkeit des Eisens als unorganisches Eisen läßt den Gedanken nicht von der Hand weisen, daß auch in manchen Nucleoproteiden das Eisen nicht zum eigentlichen Molekül gehört, sondern eine zufällige Beimengung des Präparats gewesen ist. Für eine solche Auffassung würde mein Befund an den Köpfen der Heringsspermatozoen sprechen. Ich habe endlich deswegen noch ein Präparat von Pankreasnucleoproteid untersucht, das nach den Angaben von Hammarsten³⁾ dargestellt war und einmal durch Lösen in einer ganz schwachen Natronlauge und Ausfällen mit Essigsäure gereinigt war.

Bei der Phosphorbestimmung nach Neumann wurden folgende Werte erhalten:

0.4192 g	verbrauchen	37.9 ccm	n ₂ -NaOH	=	5.01 % P
0.3644	»	32.4	»	=	4.94 % »

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXVI, S. 135 (1898/99).

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LIX, S. 19 (1909).

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XIX, S. 19 (1894).

Hammarsten hat in seinem Präparat durchschnittlich 4,48% P, Steudel¹⁾ 4,86%, 4,50%, 4,85% P gefunden.

Dieses Präparat (etwa 0,5 g), mit Soda und Salpeter verascht, wie oben beschrieben, gab gleichfalls nur einen zweifelhaften Ausfall der Ferrocyankali- resp. Rhodankaliprobe, sodaß eine quantitative Bestimmung nicht unternommen wurde.

Dieser auffallende Befund, der im Gegensatz zu den Angaben Hammarstens steht, hat mich veranlaßt, ferner den allerersten Niederschlag, der bei der Darstellung des Nucleoproteids aus Pankreas erhalten wird, auch auf seinen Eisengehalt zu untersuchen. Die Drüsen, frisch aus dem Schlachthause bezogen, wurden in einer rostfreien Hackmaschine zerkleinert, mit Wasser ausgekocht und das Filtrat mit Essigsäure gefällt. Der Niederschlag wurde abzentrifugiert und direkt auf Eisen untersucht — gleichfalls mit negativem Erfolg.

Also auch hier durchgehends derselbe Befund wie bei den Nucleinsäurepräparaten. Die Annahme eines gleichzeitigen Vorkommens von Eisen und Phosphor in denselben Zellbestandteilen, eine Ansicht, die eine Zeitlang bei theoretischen Überlegungen eine große Rolle gespielt hat, ist schon von Inoko²⁾ für das Oxyhämoglobin widerlegt worden; das reine Oxyhämoglobin ist phosphorfrei. Für die echte Nucleinsäure trifft diese Annahme ebenfalls nicht zu: die reine Nucleinsäure ist eisenfrei. Endlich ist das Vorkommen von Eisen im Spermatozoenkopf und im Pankreasproteid nach Hammarsten zum mindesten zweifelhaft.

Die Präparate für die vorstehend beschriebenen Untersuchungen sind mir von Herrn Professor Steudel gütigst zur Verfügung gestellt worden.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LIII, S. 539 (1907).

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XVIII, S. 57 (1894).