

Ueber die Bildung von Lävulinsäure aus Nucleinsäuren.

Von

Dr. Alfred Noll.

(Aus dem physiologischen Institut zu Marburg.)

(Der Redaction zugegangen am 16. Juni 1898.)

In den Nucleinstoffen der Hefezellen und der Pankreasdrüse sind nach den Untersuchungen von Kossel¹⁾ und Hammarsten²⁾ reducirende Kohlehydrate enthalten, welche sich durch Kochen mit verdünnten Säuren leicht spalten lassen. Ein solcher reducirender Kohlehydratcomplex lässt sich in gleicher Weise bei der Spaltung der Nucleinsäure durch Säuren nicht gewinnen. Nachdem jedoch Kossel und Neumann³⁾ aus der Thymusnucleinsäure durch Einwirkung von Schwefelsäure bei höherer Temperatur Lävulinsäure, und zwar in nicht unbeträchtlicher Menge, neben Ameisensäure erhalten hatten, war der Nachweis erbracht, dass auch in der Molekül der in der Thymusdrüse vorhandenen Nucleinsäure ein Kohlehydratcomplex vorhanden sein musste, der aber nicht zur Bildung eines reducirenden Zuckers Veranlassung gibt.

Man muss also scharf unterscheiden zwischen zwei in den Nucleinstoffen enthaltenen Kohlehydratcomplexen: einem an einige Nucleine locker angefügten reducirenden Kohlehydrat,

1) Kossel: «Ueber die Nucleinsäure.» Verhandlungen der physiol. Gesellsch. zu Berlin. Jahrg. 1892—93.

2) Hammarsten: «Zur Kenntniss der Nucleoproteide. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Jahrg. 1894.

3) Kossel und Neumann: «Darstellung und Spaltungsprodukte der Nucleinsäure.» Ber. der deutschen chem. Gesellsch. Jahrgang 1894.

das sich bei der Bildung von Nucleinsäure aus Nuclein abspaltet, und einer zweiten im Molekül der Nucleinsäure festgebundenen Atomgruppe, die die Bildung von Lävulinsäure neben Ameisensäure veranlasst, die aber kein reducirendes Kohlehydrat bildet.

Bisher war diese letztere Atomgruppe nur bei der Thymusnucleinsäure beobachtet worden, es war also die Frage offen, ob sie sich auch bei Nucleinsäuren anderer Herkunft nachweisen lässt und ob sie als allgemeiner Bestandtheil der Nucleinsäuren aufzufassen ist.

Ich habe zur Entscheidung dieser Frage in dieser Richtung zunächst Nucleinsäure aus den Spermatozoen des Störs untersucht. Herr Professor Kossel hat mir das Material hierzu in liebenswürdiger Weise überlassen. Dasselbe bestand in dem Rückstand, welcher bei Verarbeitung der Störhoden nach Extraction mit Alkohol und Aether und Ausziehen des Protamins mit 1%iger Schwefelsäure erhalten und in getrocknetem Zustande aufbewahrt war.

Zur Darstellung der Nucleinsäure aus diesem Trockenrückstande wurde folgendermassen verfahren:

400 gr. der verriebenen Substanz wurden mit 5 Litern 5%iger wässriger Ammoniakflüssigkeit durchgeschüttelt und 2 Tage stehen gelassen. Dann wurde vom Ungelösten abfiltrirt und das Filtrat mit heisser concentrirter Barytlösung versetzt. Der gebildete Niederschlag wurde in der Weise, wie es Kossel und Neumann¹⁾ für die Darstellung der Thymusnucleinsäure angegeben haben, weiter behandelt, und zwar zunächst in Wasser vertheilt, dann mit Essigsäure schwach angesäuert und solange mit immer erneuten Wassermengen ausgekocht, als noch eine Probe des Filtrates mit salzsäurehaltigem Alkohol einen Niederschlag gab. Die gesammelten wässerigen Filtrate, in Salzsäure-Alkohol (15 ccm. conc. HCl auf 1000 ccm. Alkohol) gegossen, liessen die Nucleinsäure ausfallen, welche von Neuem in Alkohol vertheilt, mit Alkohol und Aether gewaschen und an der Luft getrocknet wurde.

¹⁾ l. c.

Das so gewonnene Produkt erwies sich in Wasser schwer löslich und zeigte die bekannten Eigenschaften der Nucleinsäure, insbesondere auch die Fällung von Eiweiss. Es gab weder Biuret- noch Millon's Reaction und enthielt noch geringe Mengen von Baryt als Verunreinigung.

Eine Phosphorbestimmung ergab 9,33% P (nach Abzug des Ba.)

In der aus den Spermatozoen des Rheinlachs dargestellt Nucleinsäure fand Miescher¹⁾ im Mittel 9,59% P, Altmann²⁾ 9,6% P. Aus dem Phosphorgehalt unseres Präparates kann im Vergleich mit diesen Zahlen geschlossen werden, dass die Nucleinsäure aus Störsperma ihrer Zusammensetzung nach der Salmonucleinsäure sehr nahe kommt.

12 gr. dieser Nucleinsäure wurden nun mit 100 ccm. 30%iger Schwefelsäure bei 150° im Papin'schen Topf während 2 Stunden der Spaltung unterworfen. Nachdem das Reactionsprodukt mit Aether ausgeschüttelt und der Aether abdestillirt war, hinterblieb eine bräunliche, dicke Flüssigkeit. Eine kleine Probe derselben, in Wasser gelöst, zeigte auf Zusatz von Nitroprussidnatrium und Natronlauge dunkelrothe Färbung. Liess man zu einer andern kleinen Probe auf dem Objectträger einen Tropfen Silbernitratlösung zufließen, so entstand ein krystallinischer Niederschlag, welcher unter dem Mikroskop als aus sechsseitigen Täfelchen bestehend sich erwies, wie sie für das lävulinsäure Silber charakteristisch sind.

Der Haupttheil des gewonnenen ätherischen Rückstandes wurde in Wasser gelöst und mit Thierkohle entfärbt. Zu der klaren farblosen Flüssigkeit wurde essigsäures Phenylhydrazin zugesetzt. Die sofort entstandene milchige Trübung verwandelte sich bald in eine krystallinische Masse, welche aus Krystall-

1) F. Miescher: «Die Spermatozoen einiger Wirbelthiere.» Verhandl. der naturforsch. Gesellsch. in Basel 1874. Wiedergegeben in seinen gesammelten Abhandlungen Band II., und

derselbe: «Physiol.-chem. Untersuch. über die Lachsmilch». Gesammelte Arbeiten Band II.

2) R. Altmann: «Ueber Nucleinsäure». Archiv für Anat. und Physiol. Abt. Jahrgang 1889.

nadeln bestand. Nach einmaligem Umkrystallisiren aus heissem Wasser wurde der Schmelzpunkt der Krystalle bei 107—108° gefunden. Eine Stickstoffbestimmung nach Dumas lieferte folgendes Resultat:

0,1432 gr. der im Vacuum getrockneten Substanz gaben 17 ccm. N bei 16° C. und 749 mm. Bar.

Gefunden:

13,64% N.

Ber. für $C_{11}H_{14}N_2O_2$:

13,59% N.

Die Krystalle bestanden somit aus dem Hydrazon der Lävulinsäure, deren Schmelzpunkt von E. Fischer zu 108° angegeben wird.

Durch die Bildung der Lävulinsäure aus der Nucleinsäure der Spermatozoen vom Stör ist bewiesen, dass diese Nucleinsäure in gleicher Weise wie die Thymusnucleinsäure in ihrem Molekül eine Kohlehydratgruppe enthält. Es möge einstweilen genügen, diesen Beweis für aus thierischen Spermatozoen stammende Nucleinsäure erbracht zu haben. Bei der nahen Uebereinstimmung, welche die Salmonucleinsäure mit derjenigen des Störs im P-Gehalt, und vor allem angesichts der Uebereinstimmung, welche erstere mit der von Mathews¹⁾ aus Arbacia gewonnenen und analysirten Nucleinsäure zeigt, ist an eine weitgehende Verschiedenheit der aus den Spermatozoen der einzelnen Thierklassen stammenden Nucleinsäuren so wenig zu denken, dass auch ein Fehlen der Kohlehydratgruppe in der einen oder anderen nicht zu erwarten ist.

Die Untersuchung über das Vorhandensein des Kohlehydratcomplexes in Nucleinsäuren anderer thierischer Organe, als der bis jetzt in Frage gezogenen, wird weiterhin fortgesetzt.

1) Mathews: «Zur Chemie der Spermatozoen». Zeitschr. für physiol. Chemie, Band XXIII, 1897.