

Neuere Anschauungen über die Struktur der Nucleinsäuren

Von Prof. Dr. Dr. h. c. A. R. TODD, Universität Cambridge

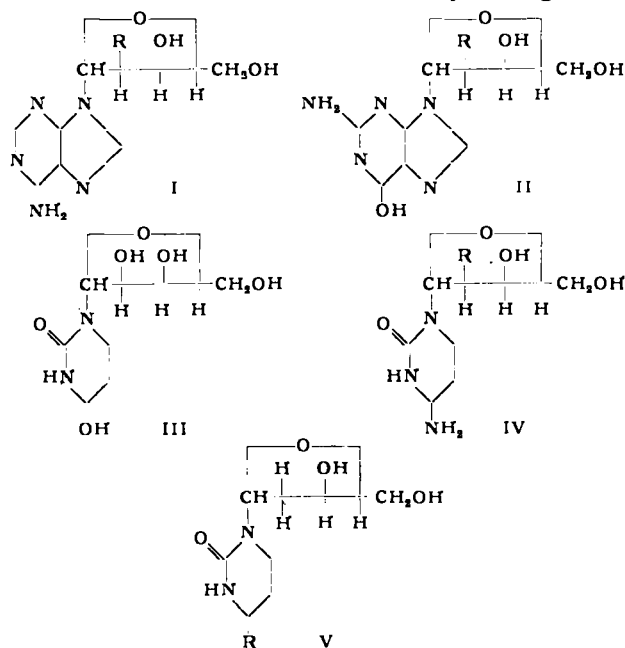
Nach einem Vortrag auf der „Auswärtigen Vortragstagung Stuttgart der Gesellschaft Deutscher Chemiker“ am 18. Juli 1952

Mit Eiweiß zu Nucleoproteiden verbunden, finden sich im Pflanzen- und Tierreich zahlreiche Desoxyribonucleinsäuren bzw. Ribonucleinsäuren. Durch Hydrolyse zerfallen sie in Nucleotide, das sind Phosphorsäureester der Nucleoside. Letztere sind Purin- bzw. Pyrimidin-Derivate, die D-Ribose oder 2-Desoxy-D-ribose enthalten. Der Aufbau der Nucleoside konnte aufgeklärt werden. Auf Grund von Untersuchungen und Überlegungen werden hier Formeln für den Aufbau von Nucleinsäuren vorgeschlagen, und zwar für die Desoxyribonucleinsäure eine einfache, geradkettige Struktur, für die Ribonucleinsäure eine Struktur mit Seitenketten.

Einleitung

Obwohl die Nucleinsäuren normale Komponenten aller Zellen und Gewebe sind, verdanken sie ihren Namen der Tatsache, daß sie ursprünglich für charakteristische Bestandteile der Zellkerne gehalten wurden. Sie finden sich in den Zellkernen mit Eiweißkörpern verbunden als sog. Nucleoproteide. Die Trennung der prosthetischen Gruppe, der eigentlichen Nucleinsäure, von dem Proteid ist manchmal schwierig und führt oft zu einem bedeutenden Abbau oder zur Depolymerisation der hochmolekularen Nucleinsäuren. Früher glaubte man, es gäbe zwei Nucleinsäuren: die Desoxyribonucleinsäure aus tierischen und die Ribonucleinsäure aus pflanzlichen Zellen. Heute wird es aber allgemein anerkannt, daß eine ganze Reihe verschiedener Nucleinsäuren existiert. Diese sind zwar entweder Desoxyribonucleinsäuren oder Ribonucleinsäuren, aber beide Typen finden sich nebeneinander sowohl im Pflanzen- wie im Tierreich. Die hervorragende Bedeutung der Nucleinsäuren in biologischer Hinsicht hätte eigentlich schon längst zu grundsätzlichen chemischen Untersuchungen führen sollen, aber tatsächlich sind sie viel oberflächlicher untersucht worden als z. B. die Eiweißstoffe oder die Polysaccharide, mit denen sie eine gewisse Analogie zeigen.

Bei der Hydrolyse zerfallen die Nucleinsäuren in die sog. einfachen Nucleotide, welche Phosphorsäureester der Nucleoside sind. Letztere sind Glykoside gewisser



Purin- und Pyrimidin-Derivate und enthalten als Zuckerkomponente D-Ribose bzw. 2-Desoxy-D-ribose. Aus Ribonucleinsäuren (z. B. Hefenucleinsäure) erhält man die

vier Nucleoside Adenosin (I; R = OH), Guanosin (II; R = OH), Uridin (III) und Cytidin (IV; R = OH); aus Desoxyribonucleinsäuren (z. B. Thymusnucleinsäure) erhält man 5 verwandte Nucleoside, nämlich Desoxyadenosin (I, R = H), Desoxyguanosin (II; R = H), Thymidin (V; R = OH), Desoxycytidin (IV; R = H) und 5-Methylcytosin-desoxyribosid (V; R = NH₂). (Letzteres wurde kürzlich in Cambridge zum ersten Male isoliert¹). Die Nucleinsäuren sind in der Tat Polynucleotide, in denen die einfachen Nucleotide durch Phosphorsäure-Reste verknüpft sind. Sie gehören also zu einer weitverbreiteten Gruppe von Naturstoffen, die wir heute als Nucleotide bezeichnen und zu welcher auch eine Reihe von Cofermenten von großem biologischen Interesse gehören wie z. B. Cozymase, Adenosin-triphosphorsäure und Flavin-adenindinucleotid. Alle Verbindungen dieser Gruppe sind aus einem oder aus mehreren einfachen Base-Zucker-Phosphorsäure-Bausteinen zusammengesetzt.

Während der letzten 10 Jahre haben meine Mitarbeiter und ich in Cambridge eine Reihe von Untersuchungen auf dem Nucleotid-Gebiet unternommen. Wir haben hauptsächlich die Methoden der synthetischen organischen Chemie angewendet in der Überzeugung, daß man auf diesem Wege viele strukturchemischen Fragen beantworten kann, die nur schwer durch Abbauprobversuche allein geklärt werden können.

Diese Untersuchungen, die natürlich auf den früheren Arbeiten von E. Fischer, Levene, Bredereck und Gulland fußen, haben schon einige Erfolge gehabt, von denen nur die folgenden genannt werden sollen: die endgültige Aufklärung der Struktur der Nucleoside einschließlich ihrer glykosidischen Konfiguration (durchweg β); die Totalsynthese der Ribonucleoside; die Synthese verschiedener einfacher Nucleotide, der Muskeladenylsäure, Adenosin-diphosphorsäure, Adenosin-triphosphorsäure, Uridin-diphosphorsäure, Nicotinamid-nucleosid, Flavin-mononucleotid u. a.²). Dieser Bericht sei jedoch auf Befunde beschränkt, die in direktem Zusammenhang mit der Struktur der Nucleinsäuren selbst stehen.

Zur Struktur der Nucleotide

Bis 1949 wurde allgemein angenommen, daß bei der alkalischen bzw. enzymatischen Hydrolyse der Ribonucleinsäuren vier einfache Nucleotide — Hefeadenylsäure, Guanylsäure, Uridylsäure und Cytidylsäure — entstehen. Auf Grund von Abbauprobversuchen (s. u.) hatte Levene³) gefolgert, daß der Phosphorsäure-Rest in diesen Verbindungen sich in 3-Stellung des Zucker-Restes befand. Ohne experimentelle Untersuchung wurde hieraus geschlossen, daß die entsprechenden Desoxynucleotide aus Thymonucleinsäure auch 3-Phosphorsäure-ester wären. Dieses merkwürdige

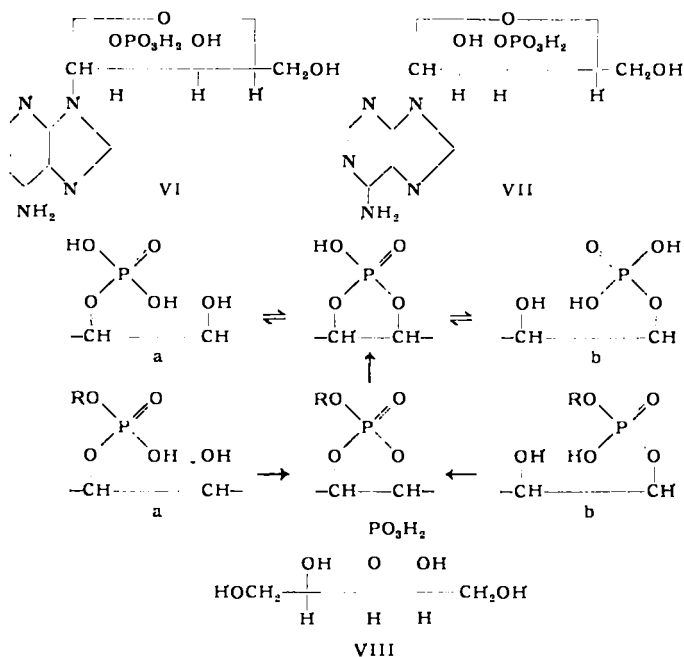
¹) C. A. Dekker u. D. T. Elmore, J. Chem. Soc. [London] 1951, 2864.

²) Vgl. Zusammenfassung G. W. Kenner: The Chemistry of Nucleotides, Fortschr. Chem. Org. Naturstoffe, 1951, VIII, 97.

³) P. A. Levene u. S. A. Harris, J. biol. Chemistry 98, 9 [1932]; 101, 419 [1933].

Vorhandensein von nur vier Nucleotiden, alle mit dem Phosphorsäure-Rest an der gleichen Stelle, machte es schwierig, für die Nucleinsäuren eine Strukturformel aufzustellen, die die Bildung anderer als der vier gefundenen Nucleotide bei der Hydrolyse ausschloß. Es wurde meistens angenommen, daß die Bindung zwischen benachbarten Nucleosid-Resten in den Ribonucleinsäuren sich in 2:3-Stellung befand. 1949 aber haben *Carter und Cohn*⁴⁾ in USA die Methode der Ionenaustausch-Chromatographie auf die Trennung der Nucleotide nach alkalischer Hydrolyse der Ribonucleinsäuren übertragen. Sie zeigten, daß nicht vier, sondern sogar acht Nucleotide isoliert werden konnten. Diese acht Nucleotide bestanden aus vier Isomerenpaaren: die Adenylsäuren a und b, Guanylsäure a und b usw. Die Adenylsäure b entsprach anscheinend der bekannten Hefeadenylsäure von *Levene*, die damals für die Adenosin-3-phosphorsäure gehalten wurde. Ähnliche Isomerenpaare wurden von den alkalistabilen Desoxynucleinsäuren nicht erhalten.

Worum handelte es sich nun bei diesen isomeren Adenylsäuren a und b? Wir können uns vorläufig auf diese beiden Säuren beschränken, denn die für sie geltenden Befunde lassen sich ohne weiteres auf die anderen Paare übertragen. Es kann kaum ein Zweifel darüber bestehen, daß sie die 2- (VI) und 3-Phosphorsäuren (VII) des Adenosins sind, obwohl wir noch nicht wissen, welche von ihnen die 2- und welche die 3-Verbindung ist. Die aus tierischen Geweben isolierte Muskeladenylsäure ist zweifellos Adenosin-5-phosphorsäure; ihre Struktur ist nicht nur durch Abbau, sondern auch auf eindeutigem synthetischen Wege über das 2:3-Isopropyliden-adenosin bewiesen worden⁵⁾. Eine eindeutige Synthese der 2- oder 3-Verbindung ist bis heute noch nicht erreicht worden, teils wegen des Fehlens eines 3:5-substituierten Adenosins als Ausgangsmaterial, teils wegen der unten zu besprechenden Isomerisierungs-Phänomene. Wir haben jedoch bei der Phosphorylierung von 5-Trityl-adenosin mittels Dibenzyl-chlorophosphonat und folgender Entfernung der Benzyl- und Trityl-Reste ein Gemisch von zwei Verbindungen bekommen, die wir trennen konnten. Diese zwei Säuren waren identisch mit den aus Hefenucleinsäuren erhaltenen Ade-



⁴⁾ C. E. Carter u. W. E. Cohn, Fed. Proc. 8, 190 [1949]. W. E. Cohn, J. Amer. Chem. Soc. 72, 1471, 2811 [1950]; Loring et al., ebenda 72, 2811 [1950].

nylsäuren a und b⁵⁾. Auf Grund des synthetischen Verfahrens und aus der Tatsache, daß sie beide periodat-stabile Derivate des Adenosins sind, kann man mit ziemlicher Sicherheit schließen, daß sie Adenosin-2- und Adenosin-3-phosphorsäure sind. Die Frage, welche die 2- und welche die 3-Verbindung ist, muß jedoch offen gelassen werden.

Als wir die Eigenschaften der Adenylsäuren a und b näher studierten, fanden wir, daß sich sowohl die Säure a als auch b beim Erwärmen im sauren Medium schnell in ein Gemisch der beiden Isomeren umwandelt; in Alkali bleiben beide Säuren unverändert. Dasselbe hat *Cohn* auch für die anderen Isomerenpaare gefunden. Diese Wanderung eines Phosphorsäure-Restes an die cis-ständige Hydroxyl-Gruppe in α -Stellung ist analog der bekannten Umlagerung der Glycerinphosphorsäuren und verläuft wahrscheinlich über einen intermediär-gebildeten cyclischen Phosphorsäure-ester.

Solche cyclischen Ester haben wir auf verschiedene Arten, u.a. durch Einwirkung von Trifluoressigsäure-anhydrid auf die Adenylsäuren a und b, darstellen können, sie zeigen die erwarteten Eigenschaften und zerfallen leicht durch Hydrolyse in ein Gemisch der einfachen Nucleotide⁶⁾.

Dieser experimentelle Befund widerlegt *Levenes* Strukturbeweis⁷⁾ für die Bindungsstelle des Phosphorsäure-Restes in der Hefeadenylsäure. Dieser Beweis beruht darauf, daß nach saurer Hydrolyse und Hydrierung der entstandenen Ribose-phosphorsäure eine Ribitol-phosphorsäure erhalten wurde, die optisch inaktiv war. Von den möglichen α -Ribitol-phosphorsäuren ist nur die 3-Phosphorsäure (VIII) optisch inaktiv; deshalb wurde gefolgert, daß der Phosphorsäure-Rest in der Hefeadenylsäure an C₃ gebunden ist. Es ist aber jetzt klar, daß schon während der Hydrolyse eine Wanderung des Phosphorsäure-Restes eintritt; *Levenes* Versuche sind also nicht eindeutig. Ein optisch-inaktives Endprodukt kann entstehen, gleichgültig ob der Phosphorsäure-Rest sich ursprünglich in 2- oder 3-Stellung befindet. (Das 2-Phosphoribitol und das 4-Phosphoribitol sind nämlich optische Antipoden).

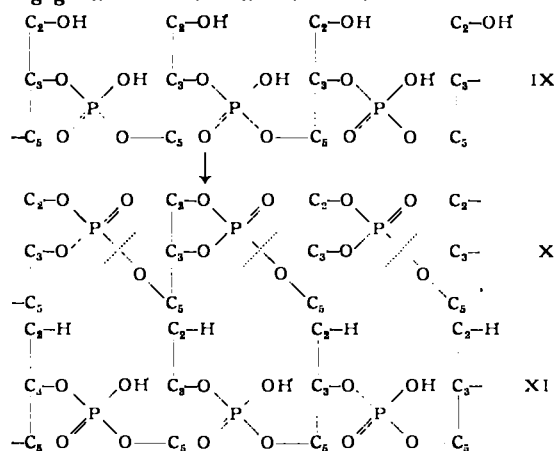
Wenn man die Eigenschaften der Ester der Adenylsäuren a und b studiert, ergibt sich folgendes: Im allgemeinen sind die Phosphorsäure-diester gegenüber Alkali ziemlich stabil; nur die Tri-ester spalten unter der Einwirkung von Alkali leicht einen Alkyl-Rest ab. Obgleich die Monoalkylester der Adenylsäuren a und b Phosphorsäure-diester sind, sind sie alkali-labil und liefern mit verdünnter Lauge ein Gemisch der freien Nucleotide. Die entsprechenden Ester der Adenosin-5-phosphorsäure bleiben unter gleichen Bedingungen unverändert⁸⁾. Dieses Verhalten ist wieder analog dem der Glycerophosphorsäure-ester, die eine ähnliche Labilität zeigen. Offenbar findet man Alkalilabilität nur in solchen Phosphorsäure-diestern, die in α -Stellung zur Phosphoryl-Gruppe eine cis-ständige Hydroxyl-Gruppe tragen. Unserer Meinung nach geschieht die Hydrolyse solcher Ester durch eine Cyclisierung, die zu einem Triester der Phosphorsäure führt; dieser zeigt die normale Hydrolysierbarkeit der Triester und spaltet den Rest R als den entsprechenden Alkohol ab. Der dabei entstehende cyclische Diester zerfällt alsdann in ein Gemisch der isomeren a und b Nucleotide. Andere Produkte sind nicht zu erwarten; denn obwohl alle drei Esterbindungen im cyclischen Triester etwa die gleiche Stabilität besitzen, so ist doch nur durch Abspaltung des Restes R ein Abbau der Molekel möglich. Als Zwischenprodukte kommen vielleicht cyclische Orthophosphate oder Phosphonium-Verbindungen in Betracht, wie sie in

⁵⁾ D. M. Brown u. A. R. Todd, J. Chem. Soc. [London] 1952, 44.
⁶⁾ D. M. Brown, D. I. Magrath u. A. R. Todd, ebenda 1952, 2708.

der Glycerophosphorsäure-Reihe vorgeschlagen worden sind. (Ich möchte betonen, daß ich hier nur eine vereinfachte Betrachtungsweise der Abbaureaktion dieser Ester wiedergebe, die jedoch für unsere Zwecke genügt).

Über die Struktur der Nucleinsäuren

Diese Überlegungen können nun auf die Nucleinsäuren übertragen werden, denn sie sind strukturell den Nucleotid-estern analog. Bekanntlich zerfallen die Ribonucleinsäuren in Gegenwart von verdünntem Alkali sehr leicht in die einfachen Nucleotide; niemals hat man größere Spaltprodukte dabei gefunden. Auch durch Säuren werden sie leicht hydrolysiert, jedoch findet dabei weiterer Abbau der Nucleotide statt. Die Desoxy-ribonucleinsäuren sind dagegen verhältnismäßig alkalistabil und werden durch milde Alkalibehandlung nicht zu kleinen Molekeln abgebaut. Wenn man die einfache, unverzweigte Polynucleotid-Kette (IX) betrachtet, in der die einzelnen Nucleosid-Reste als $C_2-C_3-C_5$ (also durch Andeutung der drei substituierbaren Zuckerstellungen) bezeichnet sind, so ist es klar, daß unter dem Einfluß von Alkali eine Cyclisierung zur intermediären Struktur (X) ablaufen wird. (X) wird dann als Triester leicht gespalten, wobei ausschließlich die $P-O-C_5$ -Bindung aufgebrochen wird. Die dadurch entstehenden cyclischen Nucleosid-2:3-phosphate werden darauf weiter zu einem Gemisch der a und b Nucleotide zerfallen. Ein solcher Mechanismus ist bei Desoxyribonucleinsäuren (XI) nicht möglich, denn hier fehlt die notwendige Hydroxyl-Gruppe an C_2 . Diese zeigen also die normale Beständigkeit der einfachen Phosphorsäure-diester gegenüber Alkalien und Säuren.



Dieser eben auseinandergesetzte Mechanismus der alkalischen Hydrolyse von Ribonucleinsäuren zusammen mit den bei enzymatischem Abbau erhaltenen Resultaten erlaubt die Aufstellung von Hypothesen über den Aufbau der Nucleinsäuren⁷⁾.

1. Desoxyribonucleinsäuren

Für diese Polynucleotide ist eine unverzweigte Kette anzunehmen, in der die internucleotidische Bindung sich in C_3-C_5 -Stellung befindet (XI). Das Fehlen einer Hydroxyl-Gruppe an C_2 in Desoxyribose macht eine solche Struktur fast obligatorisch, und sie entspricht auch den physikalischen Daten der Desoxyribonucleinsäuren. Die früher von *Levene* angenommene Struktur der einfachen, aus Desoxyribonucleinsäure enzymatisch entstandenen Nucleotide hat sich kürzlich als irrig erwiesen. Diese sind tatsächlich 5-Phosphorsäure-ester der entsprechenden Nucleoside. Eine solche Struktur wurde zuerst von *Carter*⁸⁾ auf Grund

enzymatischer Versuche vorgeschlagen und ist neulich in Cambridge durch Synthese der 5-Phosphorsäure-ester von Thymidin und Desoxycytidin bestätigt worden⁹⁾.

Auf Grund einer Formel vom Typus (XI) könnte man erwarten, daß bei der chemischen Hydrolyse eine Spaltung z.T. an der C_3-O-P - und z. T. an der C_5-O-P -Bindung eintreten würde. In diesem Fall wären die 3:5-Di-phosphorsäureester der Pyrimidin-nucleoside unter den Spaltprodukten zu erwarten. Es ist daher von Interesse, daß wir den alten Befund von *Levene* konstatieren, daß nämlich Diphospho-nucleoside bei der sauren Hydrolyse von Desoxyribonucleinsäuren entstehen. Aus solchen Hydrolysaten haben wir die 3:5-Di-phosphorsäureester von Thymidin und Desoxycytidin isolieren und ihre Struktur durch Synthese bestätigen können¹⁰⁾.

2. Ribonucleinsäuren

Wie schon erwähnt, entstehen bei der chemischen Hydrolyse ausschließlich die 2- und 3-Phosphorsäure-ester der Nucleoside (die a und b Nucleotide). Bei der enzymatischen Hydrolyse (zuerst mit Ribonuclease und nachher mit Darmphosphatase in Gegenwart von Arsenat zur Hemmung von Monoesterase) haben *Cohn* und *Volkin*¹¹⁾ gefunden, daß die 5-Phosphorsäure-ester aller vier Nucleoside in reichlicher Menge gebildet werden. Es kann also kein Zweifel darüber bestehen, daß C_5 in der internucleotidischen Bindung beteiligt ist. Diese Frage der internucleotidischen Bindung haben mein Mitarbeiter, Herr Dr. D. M. Brown, und ich an anderer Stelle in allen Einzelheiten diskutiert⁷⁾, und ich werde hier darauf nicht näher eingehen. Es genügt zu sagen, daß, unserer Meinung nach, die Hauptkette der Ribonucleinsäure aus Nucleosid-Resten besteht, die durch Phosphorsäure-Reste zwischen C_3 und C_5 verbunden sind (IX). Zwar kann man nicht von vornherein zwischen C_2-C_5 und C_3-C_5 unterscheiden, doch ziehen wir C_3-C_5 auf Grund der Analogie mit den Desoxynucleinsäuren vor. Diese Struktur würde die oben geschilderten Erscheinungen bei der Nucleinsäure-Hydrolyse, unserer Meinung nach, vollständig erklären. Aus diesen Überlegungen folgt auch, daß eine Verknüpfung zwischen C_3 und C_5 in den Ribonucleinsäuren nirgendwo vorkommen kann, denn der Ringschluß zwischen C_3 und C_5 kann nicht ohne Schwierigkeiten stattfinden. Wenn also eine C_5-C_3 -Bindung zustande käme, so müßte sie alkalistabil sein und die Nucleinsäure würde sowohl Dinucleotide wie Mononucleotide bei der alkalischen Hydrolyse geben.

Diese Hypothesen werden durch einige neue Resultate aus unseren synthetischen Arbeiten gestützt. Wir haben z. B. das Dinucleosid-5:5-phosphat Uridin-5-adenosin-5-phosphorsäureester synthetisiert; diese Verbindung bleibt durch Alkali unverändert unter Bedingungen, die den völligen Zerfall einer Ribonucleinsäure herbeiführen¹²⁾. Dagegen benimmt sich ein analoges synthetisches Produkt, in dem der Phosphorsäure-Rest C_5 in Uridin mit C_2 oder C_3 in Adenosin verknüpft ist, ganz analog der echten Nucleinsäure; es zerfällt mit Alkali leicht in Uridin und ein Gemisch der Adenylsäuren a und b¹³⁾.

Obwohl die Desoxynucleinsäuren als unverzweigte Polynucleotide angesehen werden können, so deuten eine Reihe experimenteller Befunde bei den Ribonucleinsäuren auf Kettenverzweigung hin. Vorläufig ist es unmöglich, das genaue Ausmaß dieser Verzweigung abzusehen,

⁹⁾ A. M. Michelson u. A. R. Todd, unveröffentl.

¹⁰⁾ C. A. Dekker, A. M. Michelson u. A. R. Todd, J. Chem. Soc. [London] 1952, im Druck.

¹¹⁾ W. E. Cohn u. E. Volkin, Nature [London] 167, 483 [1951].

¹²⁾ D. T. Elmore u. A. R. Todd, J. Chem. Soc. [London] 1952, im Druck.

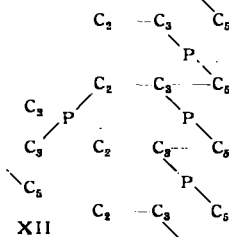
¹³⁾ Versuche von D. T. Elmore u. R. H. Hall, unveröffentl.

⁷⁾ D. M. Brown u. A. R. Todd, ebenda 1952, 52.

⁸⁾ C. E. Carter, J. Amer. Chem. Soc. 73, 1537 [1951].

doch können wir auf Grund unserer Erklärung des Hydrolysenvorganges und der Hauptkettenstruktur (IX) einiges über die Verzweigungsmöglichkeiten sagen. Vorausgesetzt, daß das Polynucleotid in verdünntem Alkali vollkommen zu einfachen Nucleotiden abgebaut wird, gibt es anscheinend zwei Möglichkeiten. Erstens könnte eine Verzweigung am Phosphor, d. h. durch Bildung einer Tri-ester-Struktur möglich sein. Die Existenz solcher Tri-ester-Bindungen in Ribonucleinsäuren ist von verschiedenen Autoren angenommen worden. Offenbar würde eine solche Verzweigung mit der chemischen Hydrolyse solange in Einklang stehen, wie die internucleotidische Bindung innerhalb der Seitenkette die normale C_3-C_5 -Sequenz zeigt.

Die zweite Möglichkeit besteht in der Verzweigung an den Zuckern, und zwar an C_2 . In diesem Falle muß der in der Hauptkette mit C_2 verknüpfte Phosphorsäure-Rest mit C_3 (oder C_2) des ersten Nucleosid-Restes der Seitenkette verbunden sein; C_5 kommt nicht in Betracht, denn sonst würde die Verzweigung zu nicht-cyclisierbaren und daher alkali-stabilen Gebilden führen. Eine verzweigte Struktur dieser Art wird in (XII) schematisch wiedergegeben.



Wenn das Enzym Ribonuclease auf Ribonucleinsäuren einwirkt, so liefert es neben größeren Spaltstücken von wechselndem Molekulargewicht nur die Pyrimidin-nucleotide, und zwar ausschließlich die b-Säuren. *Markham* und *Smith*¹⁴⁾ zeigten, daß Ribonuclease bei kürzerer Einwirkungs-dauer auf eine Virusnucleinsäure (10 min) zwei Produkte liefert, die bei weiterer Einwirkung des Enzyms langsam (oder unter dem Einfluß von Alkali schnell) Uridylsäure bzw. Cytidylsäure geben. Diese beiden Produkte sind mit unseren synthetischen cyclischen 2:3-Phosphaten des Uridins und Cytidins identisch, und ihre Menge entspricht bis auf 60% dem Pyrimidin-Nucleotid-Gehalt der Nucleinsäure. Wir halten dies für eine starke Stütze unserer Erklärung des chemischen Hydrolysenvorganges.

Dafür sprechen auch die neueren Resultate von *Markham* und *Smith*¹⁵⁾, die nach Einwirkung von Ribonuclease eine ganze Reihe von Dinucleotiden gefunden haben, in denen der außenständige Phosphorsäure-Rest in cyclischer Form vorkommt. Schlüsse über das Vorkommen von Seitenketten im Polynucleotid können aus Versuchen mit Ribonuclease allein nicht gezogen werden; man muß zu diesem Zweck auch Versuche mit anderen Fermenten in Betracht ziehen. *Cohn*¹⁶⁾ hat neulich das Auftreten von 3 (bzw. 2):5-Diphosphorsäure-estern der Pyrimidinnucleoside nach Einwirkung von einer aus Schlangengift dargestellten Diesterase auf Ribonucleinsäuren in einer Menge von 20–25% beobachtet. Wenn man annimmt, daß diese Di-phosphorsäure-ester aus Verzweigungsstellen stammen, so könnte man schließen, daß eine größere Anzahl kurzer Seitenketten in der Nucleinsäure-Molekel vorkommen. Diese Annahme würde auch im Einklang mit den Methylierungsversuchen von *Barker*¹⁷⁾ stehen, falls man diese diskutiert hinzuziehen will.

Es ist klar, daß eine genaue Kenntnis des Wirkungsmechanismus und der Spezifität der Ribonuclease zu einem besseren Verständnis sowohl der Aufeinanderfolge der Nucleotide in Ribonucleinsäuren als auch des stufenweisen Abbaus durch Fermente führen würde. Meine

Mitarbeiter, Dr. D. M. Brown, Dr. C. A. Dekker und ich haben einige Versuche darüber angestellt, die zu sehr interessanten Resultaten geführt haben. Wir haben die Einwirkung von Ribonuclease auf den cyclischen 2:3-Phosphorsäure-ester der Nucleoside studiert und dabei gezeigt, daß die Ribonuclease die Uridin- und Cytidin-Derivate ausschließlich unter Bildung der Uridylsäure-b und Cytidylsäure-b spaltet (a-Isomere wurden nicht gefunden); dagegen ist sie ganz ohne Wirkung auf die entsprechenden Adenosin- und Guanosin-Verbindungen¹⁸⁾. Dieser Befund bestätigt also die schon von *Schmidt* und anderen Autoren geäußerte Vermutung, daß die Ribonuclease spezifisch für Pyrimidin-nucleotid-Reste ist. Dies steht auch im Einklang damit, daß beim enzymatischen Abbau der Ribonucleinsäuren neben den 5-Nucleotiden nur die b-Formen der Uridyl- und Cytidylsäure entstehen¹¹⁾. Noch interessanter sind die neuesten Beobachtungen von Dr. Brown in unserem Laboratorium über die Einwirkung von Ribonuclease auf einfache Alkylester der a- und b-Isomeren der Pyrimidin-nucleotide. Das Ferment wirkt nicht auf Ester der Purinnucleotide ein, spaltet aber die Ester der Uridylsäure-b und Cytidylsäure-b zum freien Nucleotid auf — anscheinend unter Bildung eines cyclischen Esters als Zwischenprodukt. Entsprechende Ester der Uridylsäure-a und Cytidylsäure-a werden von Ribonuclease nicht angegriffen. Wenn wir diese Resultate auf die Polynucleotide übertragen dürfen, so können wir den Schluß ziehen, daß in solchen Verbindungen die internucleotidische Bindung in der Hauptkette zwischen C_5 in dem ersten Nucleosid-Rest und der b-Stellung (wahrscheinlich, aber nicht sicher 3) in dem benachbarten stattfindet. Es ist anzunehmen, daß an Verzweigungspunkten (wie z. B. in (XII)) die Seitenkette von der a-Stellung in einem Pyrimidin-nucleosid-Rest ausgeht und der erste an der b-Stellung angegliederte Rest in der Seitenkette auch ein Pyrimidin-nucleosid-Rest ist.

Ausblick

Von einem endgültigen Strukturbeweis für eine der Nuclein-Säuren kann allerdings solange noch keine Rede sein, wie uns die genaue Kenntnis sowohl der Reihenfolge der Nucleosid-Reste als auch des Vorkommens und der Anzahl der Seitenketten und die Molekelgröße fehlen. Immerhin glauben wir, daß als Resultat der hier kurz geschilderten Arbeiten und Überlegungen ein Beitrag zur allgemeinen Struktur geliefert wurde, der allen experimentellen Beobachtungen beim Abbau der Polynucleotide gerecht wird. Die vorgeschlagenen Formeln — für die Desoxyribonucleinsäuren also die einfache, geradkettige Struktur (XI) und für die Ribonucleinsäuren die Hauptkettenstruktur (IX) mit einer noch unbestimmten Anzahl von Seitenketten, die wie in (XII) oder am Phosphor angegliedert sind — mögen als Arbeitshypothesen angesehen werden, die weiter geprüft werden können und Anreiz zu weiteren Versuchen geben sollen. Wenn auch die vollständige Klärung des Problems noch nicht erreicht worden ist, so kann doch nicht übersehen werden, daß in den letzten Jahren durch die gemeinsame Arbeit von Chemikern und Biochemikern große Fortschritte gemacht worden sind. Die Weiterführung solcher gemeinsamen Arbeiten wird ohne Zweifel weitere Früchte tragen und dabei das Problem der Lösung näher bringen, wobei kaum ein Zweifel darüber bestehen kann, daß es von der biologischen Seite als wenigstens ebenso wichtig wie das Problem der Protein-Struktur angesehen werden muß.

Eingeg. am 23. Juli 1952 [A 448]

¹⁴⁾ R. Markham u. J. D. Smith, *Nature* [London] 168, 406 [1952].

¹⁵⁾ Dieselben, *Biochemic. J.* 1952, im Druck.

¹⁶⁾ W. E. Cohn u. E. Volkin, *Arch. Biochem. Biophys.* 35, 465 [1952].

¹⁷⁾ A. S. Anderson, G. R. Barker, J. M. Gulland u. M. V. Lock, *J. Chem. Soc.* [London] 1952, 369.

¹⁸⁾ D. M. Brown, C. A. Dekker u. A. R. Todd, ebenda 1952, 2715.