

Epiguanin.

Von

Martin Krüger und Georg Salomon.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Institutes in Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 6. November 1898.)

Dem Epiguanin¹⁾ ist auf Grund einer ungenauen Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung irrtümlich die Formel $C_{10}H_{13}N_9O_2$ zuertheilt worden. Im Besitze einer grösseren Menge Materials konnten wir nunmehr die Natur der Base aufklären. Das Epiguanin hat die Zusammensetzung eines Methylguanins $C_6H_7N_5O$. Durch die Umwandlung in Heteroxanthin, 7-Methylxanthin, welche durch salpetrige Säure leicht bewerkstelligt werden konnte, ist die Stellung der Methylgruppe als in 7 befindlich ermittelt. Hiernach blieb nur noch zu entscheiden, ob das Epiguanin ein Methylderivat des natürlich vorkommenden Guanins, des 2-Amino-6-oxypurins, oder des mit ihm isomeren 6-Amino-2-oxypurins ist, ob dem Epiguanin demnach die Formel I oder II zukommt:

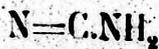
I.



7-Methylguanin.

7-Methyl-2-amino-6-oxypurin.

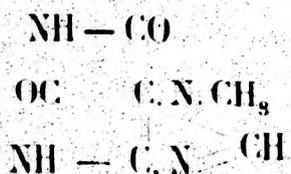
II.



7-Methyl-6-amino-2-oxypurin.

¹⁾ Verh. d. physiol. Ges. zu Berlin, Jahrg. 1893—1894, XVII. Sitz. vom 27. Juli 1894.

Die Verbindungen unterscheiden sich durch die verschiedene Stellung der Aminogruppen, sie müssen beide bei der Behandlung mit salpetriger Säure Heteroxanthin



liefern.

Das 7-Methylguanin ist von E. Fischer¹⁾ synthetisch dargestellt worden. Da das pikrinsaure Epiguanin und das Pikrat des 7-Methylguanins, welche Base uns von Herrn E. Fischer freundlichst zur Verfügung gestellt wurde, vollkommen gleiche Eigenschaften zeigten, so ist die Identität der beiden Basen bewiesen.

Experimenteller Theil.

7-Methylguanin (aus Harn).

Die von M. Krüger und C. Wulff²⁾ am 7-Methylguanin ausgeführte Elementaranalyse, welche zur Aufstellung der falschen Formel $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_9\text{O}_2$ führte, hatte folgende Resultate ergeben:

1) 0.1281 gr. Substanz, bei 120° getrocknet: 0.1956 gr. CO_2 und 0.0510 H_2O .

2) 0.040 gr. Substanz, bei 120° getrocknet, verbrauchten nach Kjeldahl 12.2 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure.

$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_9\text{O}_2$. Berechnet: C 41.24%, H 4.47%, N 43.29%.

$\text{C}_6\text{H}_7\text{N}_5\text{O}$. Berechnet: C 43.64%, H 4.24%, N 42.42%.

Gefunden: C 41.64%, H 4.42%, N 42.70%.

Bei der Wiederholung der Analysen an dem uns zur Verfügung stehenden Material, welches aus der Untersuchung: Ueber die Alloxurbasen des Harnes³⁾ stammte, wurde der Kohlenstoffgehalt um etwa 2% höher gefunden. Da das aus dem Harn isolirte 7-Methylguanin eine verfilzte, schwer pulverisirbare Masse darstellt, so hat man bei Ausführung der

¹⁾ Ber. d. deutsch. chem. Ges. XXX, 2411.

²⁾ l. c.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXIV, S. 387 u. Bd. XXV, S. 343.

Elementaranalyse auf sorgfältiges Vermischen der Substanz mit dem Bleichromat zu achten.

1. 0,1042 gr. Substanz, bei 140° getrocknet, verbrauchten nach Kjeldahl 31,35 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure.

2. 0,1208 gr. Substanz, bei 135° getrocknet, verbrauchten nach Kjeldahl 36,4 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure.

3. 0,1983 gr. Substanz, bei 135° getrocknet: 0,3157 gr. CO₂ und 0,0806 gr. H₂O.

C₆H₇N₅O. Berechnet: C 43,64%, H 4,24%, N 42,12%.

Gefunden: C 43,42%, H 4,52%, N 42,12%, 42,18%.

Nach dem Umkrystallisiren von 0,455 gr. des Körpers, wozu 500 ccm. siedendes Wasser erforderlich war, ergab die Analyse folgende Werthe:

1. 0,1297 gr. Substanz, bei 130° getrocknet, verbrauchten nach Kjeldahl 39,3 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure.

2. 0,2095 gr. Substanz, bei 130° getrocknet: 0,3358 gr. CO₂, 0,0863 gr. H₂O.

Gefunden: C 43,71%, H 4,56%, N 42,42%.

Umwandlung des 7-Methylguanins in Heteroxanthin.

Zu einer auf 60° erwärmten Lösung von 0,823 gr. Methylguanin in 30 ccm. Wasser + 10 ccm. Normal-Schwefelsäure wurden innerhalb $\frac{1}{2}$ Stunde 0,8 gr. Natriumnitrit in kleinen Portionen eingetragen. Nach Verlauf dieser Zeit begann eine reichliche Ausscheidung eines pulverigen Niederschlages, der unter dem Mikroskope aus rosettenförmig angeordneten, feinen Nadelchen bestand: schliesslich wurde die Flüssigkeit bis zum Aufhören der Gasentwicklung auf dem Wasserbade erwärmt. Nach dem Erkalten derselben löste sich die Hauptmenge des Niederschlages bis auf einige Krystalle unveränderten Methylguanins leicht in Ammoniak. Das ammoniakalische, wenig gelbroth gefärbte Filtrat wurde zur Trockene eingedampft und der Rückstand mit kaltem Wasser, dann mit Alkohol und Aether ausgewaschen: er betrug lufttrocken 0,746 gr. Seine Lösung in 40 ccm. 4%iger Natronlauge schied innerhalb 24 Stunden die glänzenden, säulenförmigen Krystalle des Heteroxanthinnatriums aus, welche nach dem Auswaschen

mit Wasser, Alkohol und Aether in einer Menge von 0,938 gr. (entsprechend 0,561 gr. freies Heteroxanthin) erhalten wurden.

1. 0,1698 gr. Substanz verloren bei 135° 0,0536 gr. H₂O und verbrauchten nach Kjeldahl 24,17 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure.

2. 0,3111 gr. verloren bei 135° 0,0981 gr. H₂O und gaben nach dem Behandeln mit Schwefelsäure 0,0774 gr. Na₂SO₄.

C₆H₅N₄O₂Na + 5H₂O. Berechnet: H₂O 32,27 %, N 20,14 %, Na 8,27 %.

Gefunden: H₂O 31,57 %, 31,53 %, N 19,93 %, Na 8,06 %.

Die heisse wässerige Lösung der Natriumverbindung schied auf Zusatz von Baryumchlorid nach dem Erkalten die feinen, verfilzten und schwach glänzenden Nadelchen des Heteroxanthinbaryums aus.

7-Methylguanin-Pikrat.

Zur Isolirung des 7-Methylguanins eignet sich wegen ihrer ausserordentlichen Schwerlöslichkeit in Wasser am besten die freie Base, zur Identificirung wird zweckmässig das Pikrat dargestellt, welches gleichfalls in Wasser schwer löslich ist und einen bestimmten Zersetzungspunkt besitzt.

Zur Darstellung des Pikrates wurden 1,35 gr. des aus Harn gewonnenen Methylguanins zusammen mit 4,4 gr. Pikrinsäure in 500 ccm. siedenden Wassers gelöst. Nach 24stündigem Stehen wurde der entstandene voluminöse, wenig glänzende Niederschlag, der unter dem Mikroskope aus langen, meistens auffallend gebogenen Prismen bestand, abfiltrirt und mit kaltem Wasser ausgewaschen. Sein Gewicht betrug lufttrocken etwa 3,00 gr. Das Salz beginnt bei ungefähr 253° zusammenzusintern und zersetzt sich plötzlich unter lebhafter Gasentwicklung bei 257° (uncorr.).

1. 0,3130 gr. Substanz, bei 100° getrocknet: 0,4226 gr. CO₂ und 0,0756 gr. H₂O.

2. 0,1589 gr. Substanz, bei 100° getrocknet, verbrauchten nach Kjeldahl 32,00 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure.

3. 0,1449 gr. Substanz, bei 100° getrocknet, verbrauchten nach Kjeldahl 29,30 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure.

C₈H₇N₃O.C₆H₂(NO₂)₃.OH. Berechnet: C 36,55 %, H 2,54 %, N 28,42 %.

Gefunden: C 36,82 %, H 2,68 %, N 28,19 %, 28,31 %.

Das Pikrat enthält kein Krystallwasser. Die Löslichkeit desselben in Wasser von 18° ist 1 gr. in 2708—2732 ccm.

Bestimmung der Löslichkeit des Pikrates.

1. 0,3 gr. Pikrat wurden mit 75 ccm. Wasser von 18° 2 Stunden auf der Schüttelmaschine geschüttelt. 50 ccm. des Filtrates hinterliessen 0,0183 gr. Pikrat (bei 100° getrocknet). Löslichkeit 1 gr. in 2732 ccm.

2. Der Filtrerrückstand wurde noch einmal mit 200 ccm. Wasser von 18° 3 Stunden geschüttelt. 150 ccm. des Filtrates hinterliessen 0,0554 gr. Pikrat (bei 100°). Löslichkeit 1 gr. in 2708 ccm.

Das Pikrat des synthetisch erhaltenen 7-Methylguanins scheidet sich aus heissem Wasser gleichfalls in gebogenen Prismen aus; es zersetzt sich, mit dem Pikrat des aus Harn gewonnenen Methylguanins an einem Thermometer erwärmt, bei derselben Temperatur 257° (uncorr.). Seine Löslichkeit in Wasser von 16° ist 1 gr. in 3049 ccm., in Wasser von 18° 1 gr. in 2737 ccm.

Bestimmung der Löslichkeit des Pikrates:

1. Etwa 0,3 gr. des Pikrates wurden mit 200 ccm. Wasser von 16° 3 Stunden geschüttelt. 150 ccm. des Filtrates hinterliessen nach dem Eindampfen 0,0492 gr. Löslichkeit 1 gr. in 3049 ccm.

2. Der Filtrerrückstand wurde noch einmal mit 200 ccm. Wasser von 18° 4 Stunden geschüttelt. 150 ccm. des Filtrates hinterliessen 0,0548 gr. Löslichkeit 1 gr. in 2737 ccm.

Will man aus dem Pikrate des 7-Methylguanins die freie Base wiedergewinnen, so löst man 1 gr. desselben in 100 ccm. Wasser unter Zusatz von wenig überschüssiger Natronlauge auf und gibt zur heissen Flüssigkeit Salmiaklösung hinzu: sofort beginnt die Ausscheidung der freien Base. Nach dem völligen Erkalten wird abgesaugt und mit kaltem Wasser ausgewaschen. Ist der Filtrerrückstand noch gelb gefärbt, so wird er noch einmal mit heissem Wasser unter Zusatz von etwas Ammoniak behandelt. Nach dem Absaugen der erhaltenen Flüssigkeit bleibt die Base rein weiss zurück.

Gibt man zu einer salzsauren, nicht zu verdünnten Lösung des synthetischen 7-Methylguanins Ammoniak in geringem Ueberschuss hinzu und kühlt die Lösung schnell ab, so erhält

man die freie Base in wetzsteinförmigen Krystallen: es erscheint uns diese Reaction nicht nur deshalb erwähnenswerth, weil auch das aus dem Harne gewonnene 7-Methylguanin in derselben Form¹⁾ erhalten wurde, sondern besonders aus dem Grunde, weil P. Balke²⁾ als Krystallform seines Episarkins wetzsteinförmige Nadelchen beschreibt, die gleichfalls aus ammoniakalischer Lösung ausfielen. Auf die Aehnlichkeit des Episarkins mit dem 7-Methylguanin haben wir schon früher³⁾ hingewiesen: hinzu kommt noch, dass Balke bei der Elementaranalyse des Episarkins einen auf 7-Methylguanin stimmenden Kohlenstoffgehalt 43,45 % (berechnet 43,64 %) gefunden hat, während allerdings der Gehalt an Wasserstoff (gefunden 5,42 %) und an Stickstoff (gefunden 37,34 %) von den für letzteren Körper berechneten Werthen (H 4,24 %, N 42,42 %) beträchtlich differirt. Da Balke aus Mangel an Material (0,4 gr.) nur eine Elementaranalyse ausführen konnte, so darf man den erhaltenen Zahlen keine zu grosse Beweiskraft beimessen. Es bliebe demnach nur noch das verschiedene Verhalten des Episarkins und 7-Methylguanins gegen Pikrinsäure und ammoniakalische Bleilösung aufzuklären. Episarkin wird durch Pikrinsäure nicht gefällt, dagegen durch ammoniakalische Bleiessiglösung,⁴⁾ mit welcher hinwiederum 7-Methylguanin keinen Niederschlag gibt.

Was die Herkunft des Methylguanins im Harne betrifft, so glauben wir, dass es, ebenso wie die methyilirten Xanthine⁵⁾ des Harnes aus höheren Homologen, aus einem höher methyilirten Guanin der Genussmittel¹⁾ oder Nahrungsmittel stamme oder aber dass es selbst ein Bestandtheil der Nahrung ist und unverändert den Organismus passirt. Die Entdeckung des 7-Methylguanins oder eines höher methyilirten Guanins mit einer in 7-Stellung befindlichen Methylgruppe in pflanzlichen oder thierischen Nahrungsmitteln wäre demnach von erheblichem Interesse.

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXIV, S. 387.

2) Inaugural-Dissertation, Leipzig 1893, bei Joh. Ambr. Barth.

3) l. c. XXIV, 391.

4) Vergl. übrigens über die hier möglichen Irrthümer: Diese Zeitschrift, Bd. XXIV, S. 388—389.

5) Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 372.