

# Über die Bildung von Pyrimidinderivaten aus Purinkörpern.

Von

H. Steudel.

---

(Aus dem physiologischen Institut in Heidelberg.)

(Der Redaktion zugegangen am 21. Oktober 1907.)

---

Unter dem Titel «Pyrimidinderivate aus Purinbasen» hat Burian in dieser Zeitschrift<sup>1)</sup> eine Arbeit veröffentlicht, deren experimenteller Teil die Fortführung eines zuerst von Kossel und mir<sup>2)</sup> ausgesprochenen Gedankens ist. Wir hatten, nachdem wir die Konstitution des Cytosins festgestellt hatten, erwogen, ob die aus der Nucleinsäure gewonnenen Pyrimidinderivate nicht ihren Ursprung einer Einwirkung des Spaltungsmittels auf die Purinkörper der Nucleinsäure verdankten. Es wurde deswegen Guanin denselben Bedingungen unterworfen wie die untersuchte Nucleinsäure, wir hatten aber in der erhaltenen Reaktionsflüssigkeit vergeblich nach Pyrimidinkörpern gesucht. Wir glaubten uns also zu dem Schluß berechtigt, daß die Pyrimidinderivate unabhängig von den Nucleinbasen aus dem Molekül der Nucleinsäure bei der Säurespaltung hervorgingen. Unsere Ansicht, die sich übrigens nicht auf diesen Versuch allein, sondern noch auf andere Überlegungen stützte, ist dann durch meine späteren Untersuchungen<sup>3)</sup> durchaus bestätigt worden; ich will aber nicht oft Gesagtes wiederholen, sondern hier nur auf meine früheren Auseinandersetzungen<sup>4)</sup> verweisen.

Burian hat nun gegen unsere damalige Versuchsanordnung sowohl wie gegen unsere Schlüsse Einwände<sup>5)</sup> erhoben

---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LI, S. 438.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXXVIII, S. 58.

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 165; Bd. XLIII, S. 402; Bd. XLVI, S. 332; Bd. XLVIII, S. 425; Bd. XLIX, S. 406; Bd. LIII, S. 14.

<sup>4)</sup> Siehe auch Biochemisches Zentralblatt, Bd. VI, S. 175.

<sup>5)</sup> Ergebnisse der Physiologie, Bd. III, 1 (1904), S. 84, 98 ff.

und auch der zweite Teil seiner oben zitierten Arbeit ist eine Polemik gegen meine späteren Arbeiten, die er fast mit den gleichen Worten unter der Form eines Referates an einer anderen Stelle<sup>1)</sup> wiederholt. Auf diese seine Ausführungen brauche ich um so weniger einzugehen, als sie längst durch meine Untersuchungen, besonders die Ergebnisse der Oxydation der Nucleinsäure mit Salpetersäure, überholt sind. Dagegen hielt ich seine experimentellen Resultate für wichtig genug, um sie einer Wiederholung zu unterziehen, nicht weil sie irgend einen Einfluß auf meine Anschauungen über die Struktur der Nucleinsäure haben, sondern weil sie vielleicht einiges Licht auf das physiologische Verhalten der Nucleinbasen, z. B. bei ihrem Abbau im Tierkörper, hätten werfen können.

Burian unterwirft also die Nucleinbasen nicht, wie wir es getan, nur der Einwirkung von Schwefelsäure, sondern bringt in die Reaktionsflüssigkeit noch ein Kohlenhydrat hinein; welches Kohlenhydrat man nimmt, ist für den Erfolg gleichgültig. Es sollen sich dann hypothetische Reduktionsvorgänge abspielen, die auch in Form von Gleichungen formuliert werden und dabei jedesmal ein Pyrimidinderivat entstehen lassen.

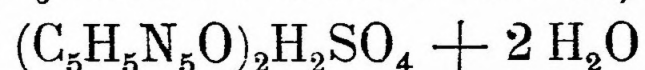
So bringt er z. B. im «Versuch 3 des Protokolles» 3 g Guanin + 4,5 g Traubenzucker + 60 ccm Wasser + 30 ccm konzentrierter Schwefelsäure zusammen, in «Versuch 8 des Protokolls» 5 g Guanin + 10 g Rohrzucker + 145 ccm Schwefelsäure von 40 Gewichtsprozent und läßt 12 Stunden am Rückflußkühler kochen. Aus der Zersetzungsflüssigkeit werden dann die Pyrimidinderivate isoliert, in «Versuch 8 des Protokolls» 0,3 g einer in Nadeln krystallisierenden Substanz.

Nach dem Muster dieser Versuche habe ich nun gleichfalls 12,5 g Guaninsulfat<sup>2)</sup> in einer heißen Mischung von 240 ccm

<sup>1)</sup> Ergebnisse der Physiologie, Bd. V (1906), S. 768, 791, 793 ff.

<sup>2)</sup> Das Guanin stammte von Spaltungen der Nucleinsäure. Das Sulfat gab folgende Werte:

0,1594 g, bei 120° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, verloren 0,0133 g und sättigten nach Kjeldahl verbrannt: 36,4 ccm  $n_{10}$ -Oxalsäure.



Verlangt: 8,26%  $H_2O$ ; 32,11% N

Gefunden: 8,34% » ; 31,97% »



Wasser und 120 ccm konzentrierter Schwefelsäure in Lösung gebracht, dann 30 g Rohrzucker hinzugesetzt und 12 Stunden lang im Paraffinbade am Rückflußkühler gekocht.

Schon äußerlich zeigte sich hier ein großer Unterschied gegen das Verhalten der Nucleinsäure unter den gleichen Bedingungen. Während die letztere glatt und ruhig siedet, so daß man die Reaktionsflüssigkeit ohne weiteres auf der Asbestplatte erhitzen kann, fing die Zuckerschwefelsäuremischung an heftig zu schäumen und ein gleichmäßiges Sieden konnte nur durch sorgfältige Regulierung der Temperatur des Paraffinbades erreicht werden.

Burian schreibt nun vor, die Zersetzungsflüssigkeit nach Filtration von den Huminsubstanzen sofort durch einen großen Überschuß von stark ammoniakalischer Silbernitratlösung vollständig von den Resten der Purinbasen zu befreien und das silberhaltige Filtrat sodann unter Kühlung vorsichtig mit Salpetersäure zu neutralisieren: im Momente der erreichten Neutralisation bildet sich plötzlich ein neuer Silberniederschlag.<sup>1)</sup>

In diesem letzten Silberniederschlag muß natürlich der größte Teil der Schwefelsäure mit niedergeschlagen werden, da Silbersulfat in neutraler Lösung schwer löslich ist; ferner muß, da beim Sieden von Rohrzucker resp. Traubenzucker mit Schwefelsäure sich nicht unbedeutliche Mengen von Lävulinsäure bilden, auch diese mit in diesen Silberniederschlag hineingehen, denn auch das lävulinsäure Silber ist in neutraler Lösung fast unlöslich. Statt also direkt mit ammoniakalischer Silberlösung in der Reaktionsflüssigkeit eine Fällung zu erzeugen, habe ich zunächst durch eine energische Ätherextraktion in dem von Kutscher und mir<sup>2)</sup> beschriebenen Apparate große Mengen von Lävulinsäure aus der Zersetzungsflüssigkeit entfernt. Ich habe mich davon überzeugt, daß keine Pyrimidinkörper in das Ätherextrakt hineingegangen waren, weder erhielt man hier mit Phosphorwolframsäure in schwefelsaurer Lösung eine Fällung

---

<sup>1)</sup> Von Burian im gesperrten Druck hervorgehoben.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXXIX, S. 473.



noch konnte die Weidelsche Reaktion im Extrakt erhalten werden.

Ferner habe ich nach der Extraktion mit Äther die Hauptmenge der Schwefelsäure mit Barytlösung ausgefällt, das Baryumsulfat wurde sorgfältig mit heißem Wasser ausgewaschen und Filtrat und Waschwasser bei schwach schwefelsaurer Reaktion auf ungefähr 250—300 ccm eingeengt. Nun wurde mit Ammoniak stark alkalisch gemacht: dabei fiel ein großer Teil unzersetzten Guanins aus, dieser wurde abfiltriert und für sich darauf untersucht, ob etwa hier Substanzen mitgefallen waren, die mit Silbernitrat in neutraler Lösung einen Niederschlag gaben. Dieses war nicht der Fall.

Nunmehr wurde mit ammoniakalischer Silbernitratlösung der Rest des Guanins aus der stark alkalischen Reaktionsflüssigkeit ausgefällt und das vom Guaninsilber abgelaufene Filtrat mit Salpetersäure neutralisiert. Dabei trat nun, trotzdem reichlich Silber in der Flüssigkeit vorhanden war, nur eine leichte Opalescenz ein, die nach mehrtägigem Stehen in einem unwägbaren Hauch sich zu Boden setzt. Irgend ein merklicher Niederschlag, wie ihn Burian beschreibt, konnte nicht erhalten werden.

Es hatten sich also in meinem Versuche, in dem ich etwa die vierfache Menge Guanin angewandt hatte, wie Burian im «Versuch 3 des Protokoll», mehr wie doppelt so viel, wie im «Versuch 8 des Protokolls», keine Pyrimidinkörper aus Guanin beim Sieden mit Schwefelsäure und Zusatz von Rohrzucker gebildet. Wäre ein Pyrimidinderivat in der Zersetzungsflüssigkeit vorhanden gewesen, so hätte es auch zweifellos von mir gefunden werden müssen.

Meine Versuche stehen im direkten Widerspruch mit denen Burians, er erhält durchaus nicht unbedeutende Mengen an Pyrimidinderivaten, z. B. im «Versuch 8 des Protokolls», aus 5 g Guanin 0,3 g eines in Nadeln krystallisierenden Körpers, den er für «Isocytosin» erklärt.

Auf welche Weise Burian zu seinen Resultaten gekommen ist, darüber lassen sich kaum Vermutungen aufstellen. Da er nichts über die Herkunft seines Guanins angibt, könnte man vielleicht denken, daß seinem Guanin Pyrimidin-



derivate von der Darstellung her angehaftet hätten. Aber er erhält ähnliche Resultate, wie beim Guanin auch beim Adenin, und da er dieses aus einer wohlbekanntem Fabrik bezogen hat, so ist anzunehmen, daß wenigstens das Adenin rein gewesen ist. Es wäre aber auch möglich, daß in der Lösung, die sehr viel Schwefelsäure enthielt, die Fällung des Guanins resp. Adenins mit ammoniakalischer Silberlösung nicht vollständig gewesen ist. Dann wären die vermeintlichen Pyrimidin-derivate (Isocytosin, 6-Aminopyrimidin, 6-Oxypyrimidin, Uracil) weiter nichts gewesen wie Guanin resp. Adenin, das der ersten Fällung entgangen und erst beim Zurückneutralisieren ausgefallen wäre. Für diese letztere Vermutung scheinen die Analysenzahlen zu sprechen, die Burian in seinem «Isocytosin» gefunden hat. So stimmen z. B. die Zahlen, die die Elementaranalyse des «Isocytosinpikrates» ergeben hat, auch annähernd auf Guaninpikrat.

Guaninpikrat:	Gefunden von Burian:
$C_5H_5N_5O \cdot C_6H_3N_3O_7$	
Verlangt: C = 34,70 %	C = 35,28 %
H = 2,12 %	H = 2,63 %

Ebenso gibt die Analyse des Platinsalzes «Isocytosin», die Burian auf eine merkwürdige, bisher nicht beachtete Doppelverbindung des Chlorhydrates und des Chloroplatinates berechnet, Zahlen, bei denen man auch allenfalls an Guaninplatinchlorid denken kann.

$(C_5H_5N_5O)_2H_2PtCl_6$	Gefunden von Burian:
Verlangt: Pt = 27,36 %	Pt = 21,49 %
Cl = 29,87 %	Cl = 30,51 %

Die Analyse der freien Base würde dann auf eine Verunreinigung mit einem kohlenstoffreicheren Körper hinweisen.

Ich habe mich nicht veranlaßt gefühlt, nach diesen Resultaten nun auch noch die Versuche Burians mit Adenin aufzunehmen, zumal auch hier die Analysenzahlen des von ihm aus der Reaktionsflüssigkeit isolierten «6-Aminopyrimidinpikrates» einigermaßen auf Adeninpikrat stimmen.

Adeninpikrat: $C_5H_5N_5 \cdot C_6H_3N_3O_7$	Gefunden von Burian:
Verlangt: C = 36,23 %	C = 36,82 %
H = 2,22 %	H = 2,35 %
N = 30,82 %	N = 26,23 %

Burian hat nun außer dem «Isocytosin» und dem «6-Aminopyrimidin» auch noch die diesen entsprechenden Oxydationsprodukte, das «Uracil» und das «6-Oxypyrimidin», isolieren können. Dies erscheint um so eigenartiger, als der Zusatz von Rohrzucker resp. Traubenzucker die Bildung von Pyrimidinderivaten aus Purinkörpern ja gerade durch Reduktion bewirken soll.

Die Versuche hätten, selbst wenn sie ein positives Ergebnis gehabt hätten, in keiner Weise meine Arbeiten über den Abbau der Nucleinsäure und die sich daraus ergebenden Folgerungen berührt. Gewiß ist es möglich, Purinkörper künstlich zu Pyrimidinderivaten abzubauen, genau so wie man sie aus Pyrimidinkörpern<sup>1)</sup> aufbauen kann; der Beweis eines solchen Abbaues durch die Versuche Burians scheint mir aber gänzlich mißglückt zu sein.

Ich habe schon einmal<sup>2)</sup> darauf hinweisen müssen, daß Burian bei einer anderen Untersuchung, es handelte sich um die Diazoverbindungen der Purinbasen, sich geirrt hat. Nach seiner Methode war es mir nicht möglich, das Diazobenzolsulfosäureadenin darzustellen. Burian hat darauf seinen Irrtum, freilich in einer sehr gewundenen Form<sup>3)</sup> zugegeben: er hat eine neue, wesentlich von der früheren verschiedene Methode zur Darstellung des Diazobenzolsulfosäureadenins angegeben, nach der er einen Körper erhält, der ganz andere Eigenschaften hat, wie der ursprünglich von ihm untersuchte. Nichtsdestoweniger bringt er auch in dieser Arbeit lange kritische Ausfälle<sup>4)</sup> gegen mich vor.

---

<sup>1)</sup> Daß man synthetisch Isocytosin, 6-Aminopyrimidin usw. darstellen kann, hat mit der vorliegenden Frage natürlich gar nichts zu tun.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 170; Bd. XLVIII, S. 428.

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LI, S. 425.

<sup>4)</sup> Siehe auch Ergebnisse der Physiologie, Bd. V, S. 791 ff.

---