

# Über die Guanylsäure aus der Pankreasdrüse.

## II. Mitteilung.<sup>1)</sup>

Von

H. Steudel und P. Brigl.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Berlin.)  
(Der Redaktion zugegangen am 18. Juli 1910.)

Nachdem man durch die quantitative Bestimmung der Spaltungsprodukte der echten Nucleinsäure ein einfaches und klares Bild von ihrem Aufbau gewonnen hatte, lag es nahe, diese Anschauungen nun auch auf die anderen Körper der Klasse der Nucleinsäuren zu übertragen. Am einfachsten schienen hier die Verhältnisse bei der von Hammarsten<sup>2)</sup> im Pankreasnucleoproteid aufgefundenen und von Bang<sup>3)</sup> näher beschriebenen Guanylsäure zu liegen; sie war offenbar ein vollkommenes Analogon zu der durch die Untersuchungen von Haiser wohl-bekannteren Inosinsäure.

Ehe aber solche Untersuchungen über die Konstitution der Guanylsäure in Angriff genommen werden konnten, war es nötig geworden, erst einmal die Existenz dieses Körpers einwandfrei festzustellen, da nicht unerhebliche Zweifel<sup>4)</sup> an der Individualität der Guanylsäure aufgetaucht waren.

Nachdem dann die Angaben Bangs einerseits bestätigt<sup>5)</sup> werden konnten — es gab in der Tat, entsprechend den Feststellungen Hammarstens, im Pankreasnucleoproteid eine phosphorhaltige Substanz, die nur Guanin und eine Pentose enthielt —, andererseits aber gefunden worden war, daß das

<sup>1)</sup> I. Mitteilung, Diese Zeitschrift, Bd. LIII, S. 539.

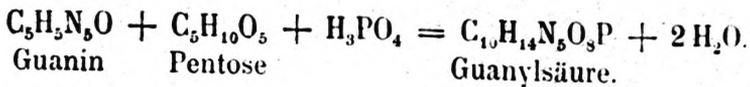
<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XIX, S. 19; Bd. XXVI, S. 135.

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXVI, S. 133; Bd. XXXI, S. 411.

<sup>4)</sup> Beiträge zur chem. Physiol., Bd. IV, S. 175; Bd. X, S. 174.

<sup>5)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LIII, S. 539.

Glycerin nicht als Spaltungsprodukt der Guanylsäure zu betrachten sei,<sup>1)</sup> so mußte auch die von Bang für die Guanylsäure aufgestellte Elementarformel sowohl wie die Strukturformel<sup>2)</sup> einer Revision unterzogen werden. Sieht man nämlich die Guanylsäure analog der Inosinsäure an als einen aus Guanin, Pentose und Phosphorsäure bestehenden Komplex, so bleibt nach der Formulierung von Bang noch ein unaufgelöster Rest zurück.



Diese Formel der Guanylsäure, mit 4 multipliziert, da Bang angenommen hat, daß 4 Phosphoratome in der Guanylsäure vorhanden sind, gibt:  $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{N}_{20}\text{O}_{32}\text{P}_4$  und würde sich von der Bangschen Formel  $\text{C}_{44}\text{H}_{66}\text{N}_{20}\text{O}_{34}\text{P}_4$  um  $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}_2$  unterscheiden. Diese  $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}_2$  sind also bisher nach der Bangschen Formulierung nicht aufgelöst. Bang selbst legt auf seine alte Formel großen Wert und hat in einer soeben erschienenen Arbeit<sup>3)</sup> betont, daß dieser Rest ein großes Hindernis wäre, die einfachen Anschauungen über die Inosinsäure resp. über die echte Nucleinsäure nun auf die Guanylsäure zu übertragen.

Wir haben uns nun seit dem Erscheinen der ersten Publikation des einen von uns über die Guanylsäure andauernd mit diesem Gegenstand weiter beschäftigt und haben schon seit längerer Zeit eine Antwort auf die eben aufgeworfene Frage gefunden.

Wir hatten die Absicht, uns zum Zweck der Elementaranalyse absolut reine Guanylsäure darzustellen, um selbst über einige Kohlenstoff- und Wasserstoffanalysen zu verfügen.

Dazu wurde zunächst nach Hammarsten Nucleoproteid aus Pankreas bereitet.

Es wurden z. B. 25,5 kg frische, rein präparierte und zerkleinerte Drüsen mit 17 l Wasser etwa 10 Minuten lang aufgeköcht und bis zum völligen Erkalten fortgestellt.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LIII, S. 539; v. Fürth und Jerusalem, Beitr. z. chem. Phys., Bd. X, S. 174.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 425.

<sup>3)</sup> Biochem. Zeitschrift, Bd. XXVI, S. 293.

Dann sammelt sich das Fett, das selbst einer sorgfältigen Präparation immer noch entgeht und im warmen, flüssigen Zustande die Filter bald verstopfen würde, als fester Kuchen an der Oberfläche und kann leicht abgehoben werden. Der nach der Filtration bleibende Rückstand wird noch einmal mit 6 l Wasser aufgekocht und filtriert. Man erhält ein hellgelbes klares Filtrat, dem 5—10% Essigsäure und das gleiche Volumen 96%igen Alkohols zugesetzt werden. Es fällt ein Nucleoproteid in reichlichen Mengen aus, dessen P-Werte mit dem von Hammarsten und den früher von mir gefundenen übereinstimmen. (Ausbeute etwa 500 g.)

0,2738 g, nach Neumann verascht, neutralisieren 22,0 ccm  $n_{\frac{1}{2}}$ -NaOH  
= 4,45% P.

0,4352 g, nach Neumann verascht, neutralisieren 36,3 ccm  $n_{\frac{1}{2}}$ -NaOH  
= 4,62% P.

Durch den Zusatz von Alkohol werden die Ausbeuten ganz befriedigend; <sup>1)</sup> das Nucleoproteid ist offenbar in Wasser nicht unbeträchtlich löslich.

Aus dem Proteid wurde in bekannter Weise die Guanylsäure gewonnen. Je 12 g Proteid wurden mit 400 ccm 2%iger KOH eine halbe Stunde lang unter Umschütteln im siedenden Wasserbad gehalten, dann mit verdünnter Essigsäure neutralisiert, heiß filtriert, mit etwas mehr Essigsäure angesäuert und bis zum nächsten Tage in den Eisschrank gestellt. Es hatte sich dann immer ein reichlicher Bodensatz abgeschieden, der abzentrifugiert wurde. Dieser Bodensatz sollte nun nach Bang durch wiederholtes Auflösen in ganz schwach KOH-haltigem Wasser und Fällen mit Essigsäure weiter gereinigt und als freie Guanylsäure gewonnen werden. Dabei stellte sich aber heraus, daß schon nach wenigem Umfällen mit Essigsäure überhaupt nichts mehr auszufällen war, daß selbst ein reichlicher Alkohol-

<sup>1)</sup> Wir halten die von Bang (Biochem. Zeitschrift; Bd. XXVI, S. 296) empfohlene Fällung des Nucleoproteids mit Oxalsäure für bedenklich; die scheinbar bessere Ausbeute ist sicher zum Teil durch das reichliche Ausfallen von Calciumoxalat aus der calciumreichen Flüssigkeit bedingt. Die Gegenwart des vielen Ca-Oxalat kommt auch in den von Bang gefundenen Analysenzahlen zum Ausdruck: Gefunden von Bang 15,09% N, 3,40% P; von Hammarsten 17,39% N, 4,48% P.

zusatz keine Fällung erzeugte, daß diese aber sofort eintrat, als wässrige konzentrierte Kaliumacetatlösung hinzugesetzt wurde.

Wir haben dann diesen Niederschlag nach dem Auswaschen und Trocknen mit Alkohol und Äther auf seinen Kaligehalt untersucht und 9,55% K gefunden.

Dazu wurden 1,0081 g Substanz nach Neumann verascht, die Salpetersäure und der größte Teil der Schwefelsäure durch Abrauchen entfernt, alkalifreier Baryt zugefügt, filtriert, salzsauer gemacht, der Baryt mit Ammoncarbonat entfernt, gelinde geglüht, das Kalium als  $K_2PtCl_6$  gewogen. Gefunden 0,5970 g.

Als dann diese Substanz noch einmal in möglichst wenig 2%iger Kalilauge gelöst und mit einem Überschuß von Essigsäure ausgefällt wurde, enthielt sie nur noch 6,68% K. Dazu wurde wieder 1,1599 g Substanz nach Neumann verascht, mit alkalfreiem Baryt die Phosphorsäure, der Baryt durch Schwefelsäure entfernt und das Kalium als  $K_2SO_4$  gewogen. Gefunden 0,1726 g.

Daß der Alkaligehalt nicht etwa aus den Reagenzien stammte, wurde durch einen blinden Versuch festgestellt. Dazu wurde 4,88 g Baryt wie oben behandelt, gefunden wurde nicht durch Schwefelsäure fällbar 0,0045 g Sulfat. Da bei obigen Analysen nie mehr als etwa 1,5 g des Baryts verwandt wurden, können die Analysen durch Unreinheit der Reagenzien nicht wesentlich beeinflußt sein.

Es kann also gar kein Zweifel bestehen, daß man durch Auflösen in Kali und Ausfällen mit Essigsäure zu einem kaliumhaltigen Körper kommt und daß somit die  $\beta$ -Guanylsäure Bangs in Wirklichkeit saures guanylsaures Kali ist. Die durch HCl gefällte  $\alpha$ -Guanylsäure stellt dann vielleicht die dazu gehörige freie Säure dar.<sup>1)</sup> Durch die Existenz des sauren Kalisalzes erklärt sich dann auch die merkwürdige Fällbarkeit durch Essigsäure, die sonst einen Unterschied zwischen der Guanyl-

<sup>1)</sup> Nur so läßt sich der hohe «Aschegehalt» der  $\beta$ -Guanylsäure von 34,3% erklären. Bang hat schon selbst beobachtet, daß in dieser Asche neben Phosphor reichlich Kali enthalten ist.

säure und allen anderen Nucleinsäuren bedingen würde, sowie der Umstand, daß die Substanz bei öfterem Umlösen aus Wasser und Wiederausfällen immer löslicher wird: der Körper wird eben immer kaliärmer.

Daß ein Salz vorliegt, zeigt sich auch in der Möglichkeit doppelter Umsetzungen. So kommt man z. B. zu einem Baryumsalz durch Umsetzung mit essigsäurem Baryum. Dies letztere Salz ist von uns nur für die Untersuchung der Pentose angewandt.

Berechnet man nun die für saures guanylsaures Kali verlangten Werte und vergleicht sie mit den experimentell gefundenen, so ergibt sich folgendes:

$C_{10}H_{13}KN_5O_8P$	Verlangt:	Gefunden:	$\beta$ -Guanylsäure Bang <sup>3)</sup>
C	= 29,90%	—	34,18%
H	= 3,26%	—	4,57%
N	= 17,45%	16,91, <sup>1)</sup> 16,89, <sup>1)</sup> 17,88 <sup>1) 2)</sup>	18,21%
P	= 7,72%	7,76, <sup>1)</sup> 7,77, <sup>1)</sup> 7,52 <sup>1) 2)</sup>	7,64%
K	= 9,75%	9,55%	—

Die Übereinstimmung der N-, P- und K-Werte ist also durchaus befriedigend, die C- und H-Werte weichen freilich erheblicher ab. Auf diese Abweichung ist aber um so weniger Wert zu legen, als ja gar keine Garantie vorhanden ist, daß man bei der Analyse nun gerade dieses Kalisalz hat. Je sorgfältiger man seine Substanz für die Elementaranalyse umgefällt und gereinigt hat, um so weniger werden alle Werte zusammen befriedigend stimmen. So berechnet sich z. B. für 1 Mol freie Guanylsäure + 1 Mol saures guanylsaures Kali C = 31,39%, H = 3,56%, N = 18,33%, P = 8,11%, K = 5,11%.

Dazu würde annähernd der von uns nach einmaligem Umfällen gefundene Kaliwert 6,68% stimmen. (S. oben.)

<sup>1)</sup> 0,2097 g (bei 120° getrocknet) neutralisieren 25,3 ccm  $n_{10}$ -Oxalsäure = 16,91% N (Kjeldahl).

0,1892 g (bei 120° getrocknet) neutralisieren 22,8 ccm  $n_{10}$ -Oxalsäure = 16,89% N (Kjeldahl).

0,1970 g (bei 120° getrocknet) neutralisieren 27,6 ccm  $n_{2}$ -NaOH = 7,76% P (Neumann).

0,2061 g (bei 120° getrocknet) neutralisieren 28,9 ccm  $n_{2}$ -NaOH = 7,77% P (Neumann).

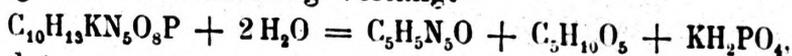
<sup>2)</sup> Steudel, Diese Zeitschrift, Bd. LIII, S. 541.

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 419; s. auch die anderen Analysen Bangs: Biochem. Zeitschrift, Bd. XXVI, S. 308.

Es ist natürlich nicht erlaubt, wie Bang es öfters tut, die Analysenwerte auf «aschefreie» Substanz umzurechnen, da das Kalium durchaus den anderen Elementen im Molekül gleichberechtigt ist. So gibt z. B. ein Präparat Bangs 25,86% C, 3,17% H, 13,58% N, 5,96% P, Zahlen, die, was C und H anbetrifft, schon der Formel des sauren guanylsauren Kalis etwas näher kommen.

Wir glauben aber, daß aus den eben angeführten Gründen den Ergebnissen der Elementaranalyse, speziell den C- und H-Werten, garnicht eine solche große Bedeutung beizumessen ist, dagegen scheint uns die quantitative Bestimmung der Spaltstücke für die Aufklärung der Konstitution viel fruchtbarer zu sein.

Vergleicht man nun die experimentell gefundenen Werte von Guanin und Pentose mit den theoretisch berechneten, wie sie folgende Formulierung verlangt:



so findet man:

Guanin verlangt: 34,55%. Gefunden: 34,72%<sup>1)</sup>

Pentose » : 34,30% » rund: 30,<sup>2)</sup> 34,3,<sup>3)</sup> 29,<sup>4)</sup> 32,<sup>5)</sup>  
41,5,<sup>6)</sup> 41%<sup>6)</sup>

Die Übereinstimmung ist gut, es hindert nichts, für die fehlenden Prozent Pentose einen Verlust als Furfurol anzunehmen, da beim Erwärmen von Guanylsäure mit 5%iger  $\text{H}_2\text{SO}_4$  sich immer Furfurol bildet.

Die experimentellen Ergebnisse berechtigen also dazu, als einfachsten Ausdruck der Guanylsäure die Formel  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}_8\text{P}$  aufzustellen — sämtliche Versuchsergebnisse lassen sich mit ihr in Einklang bringen. Ob der Guanylsäure wirklich diese ein-

<sup>1)</sup> Steudel, Diese Zeitschrift, Bd. LIII, S. 539.

<sup>2)</sup> Bang, Diese Zeitschrift, Bd. XXVI, S. 149, 150.

<sup>3)</sup> Bang, Beiträge zur chem. Physiol., Bd. IV, S. 179.

<sup>4)</sup> Bang, Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 422.

<sup>5)</sup> Bang, Biochem. Zeitschrift, Bd. XXVI, S. 306, 307.

<sup>6)</sup> Bang, Biochem. Zeitschrift, Bd. XXVI, S. 306, 307. Diese Werte sind von Bang auf «aschefreie» Substanz umgerechnet. Das ist nach unseren obigen Ausführungen nicht angängig. Für die «aschehaltige» Substanz ergibt es den vorhergehenden Wert: 32%.

fache Formel oder ein Vielfaches davon zukommt, haben wir nicht weiter untersucht. Wir glauben auch nicht, daß sich das so einfach entscheiden läßt; jedenfalls darf man nicht die Gelatinierbarkeit der guanylsauren Salze als Beweis für ein großes Molekül heranziehen. Die Gelatinierbarkeit, die wir auch des öfteren an unseren Präparaten beobachtet haben, findet sich bei Säurederivaten aus der Zuckerreihe sehr häufig; so zeichnet sich z. B. das epizuckersaure Baryum, das doch ganz gewiß ein einfacher Körper ist, durch hervorragendes Gelatiniervermögen aus. Möglicherweise gibt es ja, analog den Zuckern und Peptiden, Mono- und Polyguanylsäuren.

Viel wichtiger als diese Fragen sind vorläufig die Fragen nach der Konstitution der Pentose der Guanylsäure und die Art der Verknüpfung der einzelnen Spaltstücke. Durch Spaltung mit starker  $\text{HNO}_3$  kann man z. B. das Guanin abspalten und erhält einen reduzierenden Rest mit organisch gebundener Phosphorsäure. Die Untersuchung dieses Komplexes, dessen Formel leicht theoretisch zu berechnen ist, ist noch nicht abgeschlossen. Wir haben dann ferner sehr viel kostbares Material aufgewendet, um das von Levene<sup>1)</sup> beschriebene Guanosin zu bekommen. Aber trotzdem wir uns genau an die von Levene gegebenen Vorschriften hielten, ein anderes Mal, nach der von Levene für den inosinsauren Baryt angegebenen Vorschrift, unser Ba-Salz 4 Stunden im Rohr bei  $135^\circ$  erhitzten, konnten wir nur Flüssigkeiten erhalten, die entweder noch allen Phosphor in organischer Bindung enthielten, oder bei denen schon eine weitgehende Guaninabspaltung neben der Phosphorsäureabspaltung eingetreten war.

Es wurden z. B. 3 g saures guanylsaures Kali in 50 ccm Wasser unter tropfenweisem Zusatz von Kalilauge gelöst. Die nun stark alkalisch reagierende Lösung wurde sehr vorsichtig mit Essigsäure neutralisiert; aber ehe Neutralität erreicht war, entstand schon auf Zusatz eines jeden Tropfens Essigsäure ein dicker, weißer Niederschlag (eben wieder schwerlösliches, saures guanylsaures Kali). Trotzdem wurde nun weiter mit dem Zusatz der Essigsäure fortgefahren, bis die über dem Nieder-

<sup>1)</sup> Ber., Bd. XLII, S. 2473 u. 2476.

schlag stehende Flüssigkeit gerade eben anfang, auf blaues Lackmuspapier sauer zu reagieren. Dann war aber die schwach alkalische Reaktion auf rotes Lackmuspapier noch nicht ganz verschwunden. Nun wurde die Aufschwemmung 4 Stunden lang im geschlossenen Rohr im Schießofen auf  $135^{\circ}$  erhitzt, nach dem Erkalten war der gesamte farblose Röhreninhalt gelatiniert. Beim Öffnen der Röhre starker Geruch nach Acetamid. Reaktion vollkommen neutral. Wieder in Lösung gebracht, zeigte sich schwache Linksdrehung bei der Polarisation, keine Reaktion mit Diazobenzolsulfosäure, kein Niederschlag mit Magnesiamixtur.

Bei einem anderen Versuch wurden wieder 3 g wie oben behandelt; aber dieses Mal wurde mit dem Zusatz der Essigsäure solange fortgefahren, bis die alkalische Reaktion auf rotes Lackmuspapier vollkommen verschwunden war; dann reagierte aber die Flüssigkeit auf blaues Lackmuspapier sehr deutlich sauer. Nachdem 4 Stunden auf  $135^{\circ}$  erhitzt war — dieses Mal im Autoklaven —, zeigte sich beim Öffnen der Röhre wieder ein starker Geruch nach Acetamid. Die ursprüngliche farblose Lösung, die über Nacht gestanden hatte, hatte sich von der Oberfläche her stark gebräunt, sodaß oben in der Flüssigkeit eine breite, dunkelbraune Zone sich befand. Eine polarimetrische Untersuchung war nicht möglich, Reaktion mit Diazobenzolsulfosäure kräftig, desgleichen dicker Niederschlag mit Magnesiamixtur.

Hier war also im Gegensatz zum ersten Versuch eine vollkommene Spaltung eingetreten. Levene schreibt für die Spaltungen eine Reaktion vor,<sup>1)</sup> die weder schwach sauer noch alkalisch sein soll — eine solche Reaktion zu bekommen, ist uns bisher nicht möglich gewesen.

Bei der Isolierung des Guanosins aus diesen Flüssigkeiten nach Levene haben wir in der betreffenden Fraktion entweder nichts, oder einen gelatinösen Niederschlag erhalten, der stets phosphorhaltig, also nur unzersetzte Guanylsäure war. Ein endgültiges Urteil über die Existenz des Guanosins wollen wir damit natürlich nicht abgeben.

---

<sup>1)</sup> Ber., Bd. XLII, S. 2476.

Allerdings erscheint bedenklich, daß auch das Guanosin Levenes «immer kleine Mengen Asche enthielt» (Ber. 42, 2473).

Wir haben endlich versucht, aus der hydrolysierten Guanylsäure die Pentose rein zu gewinnen und näher zu charakterisieren.

Dazu wurde zunächst das Verhalten des Kalisalzes im polarisierten Lichte untersucht, da die Angaben über das optische Drehungsvermögen der Guanylsäure in der Literatur voller Widersprüche sind.

0,5 g in 20 ccm  $H_2O$  + KOH gelöst dreht im Halbschattenapparat mit dreiteiligem Gesichtsfeld im 22 cm langen Rohr  $2^\circ$  nach links, desgleichen die mit Essigsäure übersäuerte Lösung, vor dem Ausfallen eines Niederschlages rasch untersucht.

4 g Kalisalz, in Wasser zu 100 ccm gelöst, ließ sich, der Schwerlöslichkeit des Salzes wegen, nur in der Hitze untersuchen und drehte im 22 cm langen Rohr —  $3,1^\circ$  (bei  $80^\circ$  untersucht).

Löst man in verdünnten Mineralsäuren, so ist eine ganz schwache Rechtsdrehung zu konstatieren.

Nachdem also eine deutliche Linksdrehung des sauren guanylsauren Kalis konstatiert war, wurde versucht, die Pentose zu gewinnen. Hierfür eignete sich natürlich nicht das Kalisalz, das wir für die ersten Versuche angewandt haben, weil das Kali sich aus den Untersuchungsflüssigkeiten nur schwierig wieder entfernen ließ; wir haben deswegen durch Umsetzung mit Baryumacetat uns guanylsaures Baryum hergestellt.

50 g guanylsaures Baryt wurden mit einem Gemisch von 2500 ccm  $H_2O$  und 130 ccm  $H_2SO_4$  3 Stunden im Wasserbade erhitzt. Nach dem Erkalten wurde vom reichlich auskristallisierten Guaninsulfat abfiltriert, die wasserklare Flüssigkeit mit einigen Tropfen Phenolphthalein versetzt und unter steter guter Kühlung alkalifreier Baryt bis zur deutlichen bleibenden Rosa-färbung zugesetzt. Weiterer Zusatz von Baryt erzeugte nun keinen Niederschlag mehr. Dann wurde der Barytniederschlag rasch ausgeschleudert und die Lösung durch wenige Blasen Kohlensäure wieder entfärbt. Nach einigem Stehen, wobei  $BaCO_3$  und Guanin ausfällt, wurde im Vakuum eingeeengt, die

letzten Reste Guanin durch Silbersulfat in schwach schwefelsaurer Lösung entfernt, das Silber als Schwefelsilber, die Schwefelsäure durch Baryt und der überschüssige Baryt durch Kohlensäure fortgeschafft. So kommt man zu einer stark links drehenden, reduzierenden, hellgelblichen Flüssigkeit, die nach dem Einengen im Vakuum einen schwach bräunlichen Sirup liefert, der mit 99%igem Alkohol aufgenommen werden konnte, ohne einen reduzierenden Rückstand zu hinterlassen. Beim vorsichtigen Verdunsten des Alkohols verbleibt ein heller Sirup, der bisher von uns auf keine Weise zur Krystallisation gebracht werden konnte. Da die Darstellung eines Osazons, das der Sirup mit Leichtigkeit lieferte und das von allen Untersuchern übereinstimmend beschrieben wurde, uns bei der Ähnlichkeit der beiden fraglichen Osazone keine weiteren Aufschlüsse über die besondere Natur der Pentose würde geliefert haben, so haben wir uns entschlossen, das p-Bromphenylosazon aus dem Sirup herzustellen. Freilich ist das Arbeiten mit p-Bromphenylhydrazin noch unangenehmer wie mit Phenylhydrazin, die Osazone fallen zuerst gewöhnlich ölig aus und lassen sich nur unter großen Verlusten reinigen. Beim Umkrystallisieren aus Pyridinwasser erhält man eine lockere Verbindung des Osazons mit Pyridin,<sup>1)</sup> vom Schmelzpunkt 80°, aus dem sich das Pyridin erst durch nochmalige Umkrystallisation aus Alkohol entfernen läßt.

Dagegen ist der Unterschied im Schmelzpunkt zwischen den beiden hier in Betracht kommenden Osazonen, dem Arabinose- und dem Xylose-p-bromphenylosazon groß genug, um wenigstens einen, wenn auch nicht sicheren und ausschlaggebenden, so doch mutmaßlichen Anhalt für die Zugehörigkeit zur einen oder zur anderen Gruppe zu geben.

Nachdem wir uns überzeugt hatten, daß die Schmelzpunkte der p-Bromphenylosazone reiner Arabinose und Xylose bei 180° resp. bei 204°, durchaus entsprechend den Angaben von Rewald,<sup>2)</sup> liegen, wurde aus unserem Pentosesirup ein p-Brom-

<sup>1)</sup> Die gleiche Beobachtung hat Levene gemacht. Ber., Bd. XLII, S. 3247.

<sup>2)</sup> Ber., Bd. XLII, S. 3135.

phenylosazon gewonnen, daß auch nach dem Umkrystallisieren einen konstanten Schmelzpunkt von  $180^{\circ}$  zeigte, nachdem es bei  $177^{\circ}$  anfang zu sintern. Das Osazon des unbekanntes Zuckers gab, mit Arabinose-p-bromphenylosazon gemischt, keine Schmelzpunktdepression. Eine optische Untersuchung unseres Osazons gab kein eindeutiges Resultat.

Es scheint also, als ob die letzte Angabe der vorher recht widerspruchsvollen Beobachtungen<sup>1)</sup> Levenes zutreffend ist, daß der Zucker der Arabinosereihe angehört. Jedenfalls ist er nicht identisch mit der Pentose, die Neuberg<sup>2)</sup> aus dem Extrakt der ganzen Pankreasdrüsen gewann und als l-Xylose identifizierte und die Rewald<sup>3)</sup> neuerdings als p-Bromphenylosazon isolierte. Nach diesen Resultaten müssen also mindestens zwei Pentosen im Pankreas vorkommen. Wir werden diese Verhältnisse weiter untersuchen.

Insbesondere würde die Guanylsäure sich auch von der Inosinsäure<sup>4)</sup> dadurch unterscheiden, daß man bei der Hydrolyse mit verdünnter Schwefelsäure eine andere Pentose bekommt.

Gelegentlich einer Spaltung des sauren guanylsauren Kalis analog der vorstehend beschriebenen Spaltung wurden auch Reduktions- und Drehungsbestimmungen in der reduzierenden Restflüssigkeit vorgenommen. Es waren 21,75 g guanylsaures Kali hydrolysiert und ohne besondere quantitative Vorsichtsmaßregeln aufgearbeitet. Die Pentoselösung wurde auf 100 ccm aufgefüllt und 10 ccm verdünnt mit 10 ccm H<sub>2</sub>O nach Fehling titriert. Darnach waren in der Flüssigkeit 5 g Zucker, auf Traubenzucker berechnet, vorhanden.

In 10 cm-Rohr drehte die Lösung —  $0,97^{\circ}$ . Nimmt man als spezifische Drehung die von Haiser für die Pentose der Inosinsäure gefundene Drehung  $[\alpha] = -19,6^{1,5)}$  so er-

<sup>1)</sup> Siehe auch Neuberg, Ber., Bd. XLII, S. 2806.

<sup>2)</sup> Neuberg, Ber., Bd. XXXV, S. 1467.

<sup>3)</sup> Ber., Bd. XLII, S. 3135.

<sup>4)</sup> Haiser und Wenzel, Monatshefte für Chemie, Bd. XXIX, S. 157; Bd. XXX, S. 147. — Neuberg und Brahn, Biochem. Zeitschrift, Bd. V, S. 449; Ber., Bd. XLI, S. 3376.

<sup>5)</sup> Monatsh. f. Chemie, Bd. XXX, S. 147.

hält man. hieraus berechnet, 4,9 g Pentose, also eine genügende Übereinstimmung zwischen Titration und Drehungsbestimmung. 5 g Zucker aus rund 20 g Guanylsäure würden einem Prozentgehalt von 25% entsprechen. Wenn man bedenkt, daß nicht quantitativ gearbeitet worden ist, so steht die Ausbeute nicht im Widerspruch mit der für die Formel  $C_{10}H_{13}KN_5O_8P$  verlangten Theorie.

Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Gräfin Bose-Stiftung ausgeführt.