

Darstellung und Eigenschaften der Thyminsäure.

Von
R. Feulgen.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Berlin.)
(Der Redaktion zugegangen am 4. Februar 1918.)

Es sind bis jetzt zwei Körper angegeben worden, die durch milde Hydrolyse unter Abspaltung von Purinen aus der echten Nucleinsäure entstehen: Die Nucleothyminsäure¹⁾ und die Thyminsäure.²⁾ Der Entstehung der ersteren liegt folgender Gedankengang zugrunde:

Die freie a-Nucleinsäure ist in kaltem und mäßig warmem Wasser sehr schwer löslich; erst bei Siedetemperatur löst sie sich unter völliger Abspaltung aller Purinbasen. (Versuch von Kossel.) Dieser Vorgang stellt eine schwach saure Hydrolyse dar, eingeleitet durch die schwach saure Reaktion der wenn auch nur in geringen Mengen gelösten Nucleinsäure, fortgesetzt und beendet durch die Acidität der sich bildenden leicht löslichen Thyminsäure. Aber es sind, wie gesagt, zu diesem Vorgange Temperaturen nötig, die nahe dem Siedepunkte liegen, und wahrscheinlich in dem Bestreben, eine noch mildere Hydrolyse anwenden zu können und so zu einem anderen Körper zu gelangen, hat Neumann die freie b-Nucleinsäure einem ähnlichen Prozeß unterworfen. Die freie b-Nucleinsäure soll nämlich viel leichter in Wasser unter Zersetzung löslich sein, und so konnte Neumann durch Anwendung einer Temperatur von nur 50° einen Körper aus der b-Nucleinsäure erhalten, ähnlich wie die Thyminsäure bei 100° aus der a-Nucleinsäure entsteht. Er bezeichnete diesen Körper mit

¹⁾ A. Neumann, Arch. f. Physiol. Supplementband 1899, S. 552.

²⁾ A. Kossel und A. Neumann, Diese Zeitschr., Bd. 22, S. 74 (1896).

Nucleothyminsäure, aus welchem Worte schon hervorgeht, daß er sie als zwischen Nucleinsäure und Thyminsäure stehend ansah. In der Tat enthielt die Nucleothyminsäure nach den Untersuchungen Neumanns stets noch einen Teil der Purinbasen; indessen erwähnt er selbst die inkonstante Zusammensetzung seiner Präparate. Später ist die Nucleothyminsäure niemals mehr Gegenstand einer Untersuchung gewesen.

Die Existenz einer Zwischenstufe zwischen Nucleinsäure und Thyminsäure wäre immerhin möglich; theoretisch könnte z. B. ein Körper existieren, der nur eine einzige der beiden Purinbasen enthielte, und eine möglichst schonende Hydrolyse der Nucleinsäure müßte zu ihrer Gewinnung führen, vorausgesetzt, daß die eine der beiden Purinbasen leichter abzuspalten ist als die andere. Da aber die mildeste Hydrolyse der *a*-Nucleinsäure, weil sie bei 100° erfolgen muß, gleich zur Abspaltung der beiden Purinbasen unter Bildung der Thyminsäure führt, so käme für den vorschwebenden Zweck nach dem Vorgange von Neumann als Ausgangsmaterial nur die *b*-Nucleinsäure in Frage.

Es mußte also zunächst die *b*-Nucleinsäure untersucht werden. Über die Resultate dieser Untersuchungen habe ich bereits früher berichtet.¹⁾ Es hat sich dabei gezeigt, daß das nach der bisher üblichen Methode durch 2stündiges Kochen von *a*-nucleinsaurem Natrium mit verdünnter Natronlauge erhaltene Natriumsalz der *b*-Nucleinsäure schon ein weitgehendes Zersetzungsprodukt der *a*-Nucleinsäure darstellt. Dies konnte man aus den Analysenzahlen ersehen, indem bei einem so dargestellten Präparate das Verhältnis N : P nicht, wie nach unseren heutigen Kenntnissen der echten Nucleinsäure gefordert werden muß, 1,70, sondern erheblich kleiner, etwa 1,5—1,6, nach Präparaten Kostyschews sogar 1,2 ist. Daraus geht aber hervor, daß ein Angriff auf die stickstoffhaltigen Bestandteile der Nucleinsäure stattgefunden haben muß. Dieser zu kleine Quotient N : P fällt noch erheblich mehr ins Gewicht, wenn man bedenkt, daß außerdem auch Phosphorsäure (nach 4 Stunden schon

¹⁾ R. Feulgen, Diese Zeitschr., Bd. 91, S. 165 (1914).

25% des Gesamt-P-Gehaltes) abgespalten war, sodaß die wahre Zersetzung der Nucleinsäure eine viel einschneidendere ist, als aus dem Quotienten hervorgeht. Derartige Präparate sind auch — infolge alkalischer Zersetzung des Kohlenhydrates — in Lösung stark braun gefärbt. Da nun die Abspaltung der Phosphorsäure durch Alkaliwirkung keineswegs zu irgend einem Abschluß kommt, vielmehr sich ganz kontinuierlich bei längerer Einwirkung der Natronlauge fortsetzt¹⁾ und da ferner der üblichen Alkoholfällung keine trennende Wirkung auf zersetzte und unzersetzte Nucleinsäure zukommt, so haben wir in der nach jenem Verfahren dargestellten b-Nucleinsäure ein nicht einheitliches Zersetzungsprodukt vor uns. Die freie Säure eines solchen Präparates löst sich allerdings schon bei etwa 50° unter weiterer Zersetzung auf, aber das Produkt dieser Hydrolyse ist — zumal wieder die Alkoholfällung in Anwendung kommt, ebensowenig ein einheitlicher Körper wie das Ausgangsmaterial — die b-Nucleinsäure. Dies erkennt man auch daran, daß trotz wiederholtem Auflösen und Wiederausfällen jedesmal eine schwerlösliche schleimige Substanz zurückblieb, und zwar um so mehr, je konzentrierter die Lösung gemacht wurde. Die zahlreichen Analysen ergaben ganz verschiedenartige Werte, besonders, wenn bei der Darstellung der b-Nucleinsäure die Dauer der Natronlaugewirkung variiert wurde, sodaß ich auf eine Wiedergabe der Zahlen verzichten kann.

Anders liegen die Verhältnisse bei der Thyminsäure. Zu ihrer Darstellung ging man nicht nur von einem einheitlichen und verhältnismäßig gut definierten Ausgangsmaterial — nämlich der a-Nucleinsäure — aus, sondern der Prozeß der Abspaltung aller Purine verläuft auch quantitativ, sodaß die Thyminsäure als einheitlicher Körper anzusprechen ist.

Sie wurde schon im Jahre 1896 von Kossel und Neumann²⁾ dargestellt, also schon zu einer Zeit, in der unsere Kenntnisse von der echten Nucleinsäure noch sehr im Dunkeln lagen. Die Thyminsäure ist aber noch nicht in wünschens-

¹⁾ R. Feulgen, Diese Zeitschr., Bd. 91, S. 167 (1914).

²⁾ A. Kossel und A. Neumann, Diese Zeitschr., Bd. 22, S. 74 (1896).

wertiger Reinheit dargestellt worden, und es haben sich eine ganze Reihe von Eigentümlichkeiten ergeben, die noch nicht beschrieben worden sind.

Die ersten Darsteller waren der Ansicht, daß auch das Cytosin aus dem Verbande der Nucleinsäure ausgetreten, und daß nur noch das Thymin vorhanden wäre, aus welchem Grunde sie den Körper «Thyminsäure» nannten. Daß dies aber nicht der Fall war, kann man nachträglich (da jetzt im Groben der Bau der Nucleinsäure feststeht) aus den Analysenzahlen jener ersten Präparate schließen. Da nämlich Phosphorsäure bei der Hydrolyse nicht abgespalten war, so müßte, wenn nur noch das Thymin in dem Reste vorhanden gewesen wäre, das Verhältnis $N : P = 0,226$ betragen; in Wirklichkeit betrug er aber 0,63, das ist aber der Wert, der verlangt wird (0,56), wenn neben Thymin auch noch Cytosin vorhanden ist. Übrigens beweisen die Versuche Levenes¹⁾ über seine partiellen Spaltprodukte, daß das Cytosin selbst nach zweistündigem Kochen mit 2%iger Schwefelsäure im wesentlichen noch gebunden ist, und H. Steudel und Brigl²⁾ zeigten, daß nach mehrtägiger kalter Hydrolyse der Nucleinsäure mit 50%iger Salpetersäure die Purinbasen zwar ausgetreten, das Thymin und Uracil (sekundär entstanden) aber noch gebunden vorhanden waren.

Der Theorie nach müßten nach Abspaltung der beiden Purine zwei reduzierende Gruppen des Kohlenhydrats freigeworden sein, und wenn es bis jetzt noch nicht gelungen war, in der isolierten Substanz die reduzierenden Eigenschaften nachzuweisen, so lag dies an der leichten Zersetzlichkeit jener Kohlenhydratgruppen.

Von besonderem Interesse mußte die Thyminsäure sein, nachdem die freigewordenen reduzierenden Gruppen als echte Aldehydgruppen erkannt, und das Kohlenhydrat selbst nicht als Hexose, sondern als ein Derivat des Furans, und wahrscheinlich ein Vertreter der Gruppe des Glukals angesprochen worden war.³⁾ Alle darauf hindeutenden bereits früher ver-

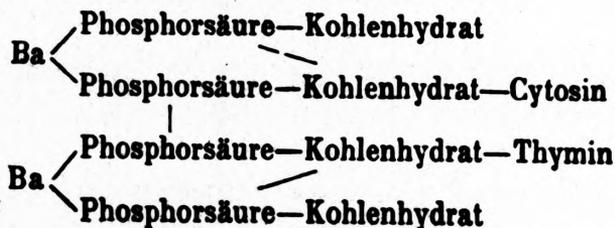
¹⁾ Levene und Jacobs, Journ. of Biol. Chem., Bd. 12, S. 417.

²⁾ H. Steudel und P. Brigl, Diese Zeitschr., Bd. 70, S. 398.

³⁾ R. Feulgen, Diese Zeitschr., Bd. 100, S. 241 (1917).

öffentlichten Reaktionen der durch milde Hydrolyse aufgeschlossenen Nucleinsäure (Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure, grüne Fichtenspahnreaktion, leichte Verharzbarkeit) mußten nämlich der entstandenen Thyminsäure eigentümlich sein. Die Thyminsäure selbst aber mußte infolge ihrer freien Aldehydgruppen ein sehr reaktionsfähiger Körper sein, von dem zahlreiche Derivate zu erwarten waren. Endlich war das thyminsaure Baryum deswegen wichtig, weil die Analysenzahlen dieses Körpers, der durch einen quantitativen Vorgang ohne störende Nebenreaktionen direkt aus der Nucleinsäure erhalten werden konnte, einen weiteren Beweis für die Molekulargröße der Nucleinsäure, und damit auch des Kohlenhydrats liefern mußten.

Entsprechend den in einer früheren Arbeit als wahrscheinlich angegebenen Molekulargröße der Nucleinsäure und gemäß ihrer in der vorhergehenden Arbeit entwickelten schematischen Struktur, muß der Bau des thyminsauren Baryums folgendermaßen angenommen werden:



Hierin ist als Molekulargröße des Kohlenhydrates $C_6H_{10}O_4$ zu setzen.

Das erste Erfordernis für die Darstellung der Thyminsäure ist die Anwendung von völlig einwandfreiem nucleinsauren Natrium. Ist dieses aus irgend einem Grunde etwas zersetzt, meist infolge zu langer Alkaliwirkung bei der Darstellung, so dokumentiert sich dies bei der Nucleinsäure, abgesehen von dem niedrigeren Gallertschmelzpunkte, in einem zu kleinen Quotient für N : P.¹⁾ Aus diesem Grunde konnten auch aus Nucleinsäure, die aus Heringssperma nach der Neumannschen Methode gewonnen war, keine befriedigenden Präparate dargestellt werden, weil nach H. Steudel hierbei eine erheblich längere Alkaliwirkung notwendig ist als bei der Nucleinsäure aus Kalbs-

¹⁾ R. Feulgen, Diese Zeitschr., Bd. 91, S. 166.

thymus. Die Merkmale einer zersetzten Nucleinsäure übertragen sich mit Sicherheit auf die aus ihr dargestellte Thyminsäure; denn zu ihrer Isolierung kommt die Alkoholfällung in Anwendung und wir haben bis jetzt kein Mittel, reine Thyminsäure von teilweise zersetzter Thyminsäure zu trennen. Hieraus folgt aber weiter, daß der Prozeß der Purinbasenabspaltung so zu leiten ist, daß er unbedingt quantitativ verläuft. Ist der Eingriff nicht energisch genug, so bekommt man ein zu hohes N : P, weil noch Purinbasen zugegen sind; ist er aber zu heftig gewesen, so verharzen die halbfreien Kohlenhydratgruppen.

Vor allem aber muß eine Bedingung erfüllt werden, auf die schon Kossel und Neumann aufmerksam gemacht haben: Es darf bei der Hydrolyse keine Phosphorsäure abgespalten werden.

Nur wenn alle diese Voraussetzungen erreicht werden können, kann man von der Thyminsäure als von einem einheitlichen Körper sprechen. Um die Möglichkeiten eingehend zu prüfen, wurde die Nucleinsäure in zahlreichen Versuchen einer sauren Hydrolyse von wechselnder Stärke unterworfen. Hierbei zeigte sich, daß nach völliger Abspaltung der Purinbasen eine breite Zone durchlaufen wird, in der keine Phosphorsäure abgespalten wurde, und keine Verharzung des Kohlenhydrates eintrat; mithin war die Darstellung eines einheitlichen Körpers unter geeigneten Bedingungen möglich. In dieser Zone war das Verhältnis N : P in den erzielten Präparaten wie berechnet immer etwa 0,56 gegen 1,7 bei der Nucleinsäure. Da die Nucleinsäure 15 Atome Stickstoff enthält, die Thyminsäure aber nur deren 5, so sind bei der Analyse vor allem die Stickstoffwerte außerordentlich charakteristisch (bei nucleinsaurem Natrium 15,12%, bei thyminsaurem Baryum nur 5,3%).

In großen Zügen ist die Darstellung der Thyminsäure folgendermaßen: Aus einer Lösung von nucleinsaurem Natrium wird durch einen kleinen Überschuß von Schwefelsäure die Nucleinsäure frei gemacht und die Hydrolyse bei 80° in 40 Minuten zu Ende geführt. Die Purinbasen werden gegen Schluß durch Hinzufügen von festem Silbersulfat beseitigt. Aus dem Filtrate wird das Silber mit Baryumchlorid und die Schwefel-

säure mit Baryumacetat entfernt. Aus letzterem bildet sich das Baryumsalz der Thyminsäure, weil diese eine stärkere Säure als Essigsäure ist. Barytwasser ist wegen der großen Empfindlichkeit des Kohlenhydrates gegen Alkalien nicht geeignet. Das Filtrat wird mit Alkohol gefällt. Da das Natriumsalz der Thyminsäure mit Alkohol nicht fällbar ist, so bildet sich auch in Gegenwart von Natriumsalzen stets das Baryumsalz; es ist also nicht nötig, von freier Nucleinsäure auszugehen, im Gegenteil ist ihre Anwendung schon wegen ihrer leichten Zersetzlichkeit nicht zu empfehlen.

Im einzelnen verfähre ich folgendermaßen:

In einem Literkolben fügt man zu 600 ccm luftfreiem Wasser unter gutem Umschütteln 20 g absolutes (von lufttrocknem entsprechend mehr) a-nucleinsaures Natrium so, daß nichts am Halse hängen bleibt, und löst es auf dem Wasserbade. Dann bringt man die Temperatur der Lösung auf 80°, fügt 50 ccm 2-n-Schwefelsäure von 80° hinzu und versenkt den Kolben nach Umschwenken sofort in ein vorbereitetes Wasserbad von 80°. Man läßt die ersten 10 Minuten ruhig im Wasserbade stehen, schüttelt aber dann einige Male um, wobei im Laufe einer Viertelstunde völlige Lösung eintritt. Nach Ablauf von einer halben Stunde, vom Einbringen der Schwefelsäure an gerechnet, fügt man 7 g sehr fein pulverisiertes Silbersulfat hinzu und schüttelt während der nächsten 10 Minuten etwa alle Minuten kräftig um. Nach diesen 10 Minuten ist die Fällung der Purine beendet, was man daran erkennt, daß der Niederschlag sich rasch absetzt, und eine klare Flüssigkeit darüber steht. Innerhalb von 40 Minuten muß also der Prozeß beendet sein. Die Flüssigkeit wird dann sofort unter der Wasserleitung abgekühlt und dann noch unter Umschütteln eine Viertelstunde in Eiswasser gekühlt, um die Silberpurine sowie auch den größten Teil des in der Wärme gelösten Silbersulfats vollends abzuscheiden. Man saugt jetzt über einem gehärteten Filter ab und wäscht die Silberpurine mit etwa 20 ccm Wasser nach. Die Filtration verläuft sehr rasch.

In den vereinigten Filtraten kann man nun folgende Reaktionen vornehmen: Auf Zusatz von etwas kalt gesättigter

Silbersulfatlösung darf kein Niederschlag auftreten, dies würde freie, aber noch nicht niedergeschlagene Purine anzeigen. Wird die Probe dann auf 5 Minuten im siedenden Wasserbade erhitzt, so darf weder beim Erhitzen noch auch beim Abkühlen ein Niederschlag oder nennenswerte Trübung auftreten, diese würde nämlich beweisen, daß zwar alle freien Purine ausgefällt, daß aber noch nicht alle Purine abgespalten waren.

Zur weiteren Verarbeitung wird die schwefelsaure Flüssigkeit in einem Literkolben mit einer heißen Lösung von 5 g Baryumchlorid und 35 g Baryumacetat in 60 ccm Wasser versetzt, zur besseren Abscheidung des Baryumsulfates im Wasserbade von 80° auf etwa 60° erwärmt, dann wieder abgekühlt, und der Kolben zum Absetzen des Baryumsulfates in möglichst schräger Lage auf einen Strohkranz gesetzt. Nach 1—2 Stunden saugt man die Flüssigkeit ab und zwar zweckmäßig durch ein Talkumfilter, das hergerichtet wird, indem man einen kleinen Teelöffel Talkum in etwas Wasser aufschwemmt, und die Masse unter Saugen mit der Pumpe auf ein angefeuchtetes Filter im Büchnerschen Trichter bringt. Man wäscht mit etwas verdünnter Essigsäure das Filter aus und gießt unter vorsichtigem Abgießen erst die Flüssigkeit, dann den Niederschlag auf das gedichtete Filter drauf. Auf diese Weise wird erreicht, daß schon die ersten Anteile des Filtrates völlig klar durchfließen, und daß die Filtration an sich verhältnismäßig schnell verläuft. Wenn alles abgesaugt ist, aber noch bevor der Niederschlag rissig wird, gießt man etwa 20 ccm Wasser ohne Nachhilfe des Spatels nach und fällt nunmehr das Filtrat mit dem 3fachen Volumen Alkohol.

Man läßt den sich bildenden weißen großflockigen Niederschlag sich absetzen, was in etwa $\frac{1}{4}$ Stunde erreicht sein wird, härtet ihn zunächst durch öfteres Dekantieren mit 96%igem Alkohol und saugt schließlich unter Zuhilfenahme von Alkohol und eventuell Äther ab. Es ist zu beachten, daß vor gehörigem Entwässern der Niederschlag nicht abgesaugt werden darf, da er sonst sehr leicht klebt. Ausbeute ca. 60% der Theorie.

Manchmal fällt das thyminsäure Baryum bei der Alkohol-fällung nicht flockig, sondern klumpig aus; in einem solchen

Falle ist vor dem Absaugen für gute Entwässerung durch wiederholtes Verreiben mit Alkohol Sorge zu tragen.

Das an der Saugpumpe mit 96%igem Alkohol nachgewaschene Präparat wird über Nacht im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet und stellt dann ein blendend weißes, schönes lockeres Pulver von sehr gleichmäßigem Korn dar. Es ist für die meisten Zwecke rein genug; vieles Umfällen ist völlig zwecklos, eine Verbesserung wird dadurch nicht erzielt, höchstens kann man es durch Umfällen vor der Analyse etwas besser von den in erheblicher Menge mitgerissenen Baryumsalzen (besonders BaCl_2) trennen; doch hat andererseits das thyminsaure Baryum zum schönen Ausflocken mit Alkohol immer etwas Baryumsalz nötig, weshalb man auch immer etwa um 2% zu hohe Werte für das Baryum und etwa 0,5% zu wenig C erhält. Analysiert wurde das thyminsaure Baryum lufttrocken, während in einer besonderen Probe der Wassergehalt bei 60° über Phosphorpentoxyd bestimmt wurde. Es darf nur wenige Stunden in dieser Weise getrocknet werden, da es sich bald unter Zersetzung gelb färbt.

Präparat I.

0,1396 g verloren bei 60° über P_2O_5 0,0154 g Wasser
 0,3809 g entsprachen 13,3 ccm $\frac{n}{10}$ -Säure (Kjeldahl)
 0,1387 g " 20,4 ccm $\frac{n}{2}$ -Lauge (Neumann).

Berechnet für $\text{C}_{22}\text{H}_{41}\text{O}_{10}\text{N}_5\text{P}_4\text{Ba}_2$:	Gefunden:
N 5,30	5,50
P 9,40	9,16

Präparat II.

0,2018 g verloren bei 60° über P_2O_5 0,0196 g Wasser
 0,3541 g entsprachen 12,2 ccm $\frac{n}{10}$ -Säure (Kjeldahl)
 0,3288 g " 11,7 ccm " " "
 0,0860 g " 13,3 ccm $\frac{n}{2}$ -Lauge (Neumann).

Berechnet für $\text{C}_{22}\text{H}_{41}\text{O}_{10}\text{N}_5\text{P}_4\text{Ba}_2$:	Gefunden:
N 5,30	5,35, 5,52
P 9,40	9,49.

Präparat III.

0,1944 g verloren bei 60° über P_2O_5 0,0222 g Wasser
 0,3343 g lieferten 0,3182 g CO_2 und 0,1310 g H_2O

0,2474 g entsprachen 8,9 ccm n_{10} -Säure (Kjeldahl)
 0,2926 g > 10,7 ccm > >
 0,0870 g > 12,9 ccm n_{10} -Lauge (Neumann)
 0,1286 g > 18,8 ccm > >
 0,5476 g lieferten 0,1826 g BaSO₄.

Berechnet für C ₃₃ H ₄₁ O ₁₀ N ₅ P ₄ Ba ₂ :	Gefunden:
C 29,95	29,30
H 3,12	3,51
N 5,30	5,69, 5,78
P 9,40	9,27, 9,26
Ba 20,78	22,15.

Zur Spaltung wurden 20 g thyminsaures Baryum in der 5fachen Menge Wasser gelöst, das gleiche Volumen 20%ige Schwefelsäure zugegeben, vom Baryumsulfat getrennt und 10 Stunden lang am Rückflußkühler gekocht. Die Hydrolysenflüssigkeit wurde in der üblichen Weise verarbeitet.

Cytosinpicrat.

0,1508 g lieferten 33,2 ccm N; t = 24°; b = 760 mm.

Berechnet für C ₄ H ₅ ON ₃ · C ₆ H ₅ O ₇ N ₃ :	Gefunden:
N 24,75	24,71.

Thymin.

0,1033 g entsprachen 16,4 ccm n_{10} -Säure (Kjeldahl).

Berechnet für C ₅ H ₈ N ₂ O ₃ :	Gefunden:
N 22,22	22,23.

Das thyminsaure Baryum dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts, da die Drehung aber Besonderheiten zeigt, so soll später eingehend darauf eingegangen werden.

Eigenschaften der Thyminsäure.

Das thyminsaure Baryum stellt ein schneeweißes lockeres Pulver dar, das sich in Wasser äußerst leicht und willig, fast augenblicklich, löst. Auch ist es noch ziemlich löslich in 50%iger Essigsäure, unlöslich dagegen in allen anderen Lösungsmitteln. Die leichte Löslichkeit ist gewissermaßen ein Kennzeichen für die Unversehrtheit des Körpers; denn schwer- oder unlösliche Präparate können als zersetzt angesehen werden. Sie lösen sich dann noch auf Zusatz von Essigsäure oder in

hartnäckigen Fällen in salzsaurer Reaktion. Längere Zeit trocken aufbewahrt oder kurze Zeit erwärmt (auch in wässriger Lösung) wird es ebenfalls unlöslich, in alkalischer Lösung auch bald bei gewöhnlicher Temperatur. Das Natriumsalz dagegen bleibt immer löslich, auch bei alkalischer Reaktion. Die Salze der Thyminsäure wirken als kräftige Schutzkolloide, besonders das thyminsaure Natrium. Versetzt man zu dem Behufe, das Baryumsalz in das Natriumsalz zu verwandeln, eine Lösung von thyminsaurem Baryum mit Natriumsulfatlösung, so entsteht eine vollkommen kolloidale Lösung von Baryumsulfat. Beim Erhitzen wird dieses zwar ausgeflockt, reißt aber dann einen großen Teil von noch nicht zersetztem Baryumsalz mit. Das kolloidale Baryumsulfat ist nicht sehr beständig, schon verdünnte Essigsäure bringt es zur Abscheidung. Viel beständiger sind kolloidale Silberlösungen; sie werden leicht erhalten, wenn man thyminsaure Salzlösung mit ammoniakalischer Silberlösung versetzt. Wegen der Empfindlichkeit des Kohlenhydrats gegen Natronlauge darf die Silberlösung nur aus Silberoxyd und Ammoniak bereitet werden. Außerdem wendet man zu diesem Zwecke besser das Natriumsalz der Thyminsäure an, weil das Baryumsalz in ammoniakalischer Lösung bei längerer Dauer des Versuches unlöslich wird. Nach Zusammenbringen der beiden Lösungen tritt schon nach wenigen Augenblicken Braunfärbung ein, und in wenigen Minuten ist eine tief braun-schwarze, völlig lackfarbene Lösung von kolloidalem Silber entstanden. Durch Mineralsäure kann das reduzierte Silber wieder ausgeflockt werden.

Am beständigsten sind kolloidale Palladiumlösungen, die bereitet werden, indem man eine Lösung von thyminsaurem Natrium mit Palladiumchlorür versetzt und mit Wasserstoff schüttelt. Dieses Kolloid ist so beständig, daß sehr große Mengen Salzsäure notwendig sind, um das Palladium auszuflocken.

Das thyminsaure Baryum ist wenig beständig; beim Aufbewahren nimmt es schon nach einigen Tagen eine gelbliche Farbe an; eine wässrige Lösung färbt sich schon über Nacht. Die Thyminsäure muß deswegen immer frisch bereitet werden.

Die Empfindlichkeit beruht natürlich auf der leichten Verharzbarkeit des Kohlenhydrates; Laugen und Säuren werden also die Zersetzung wesentlich beschleunigen. In der Tat geben Lösungen von thyminsaurem Natrium schon mit wenigen Prozenten freien Alkalis in kurzer Zeit Braunfärbung schon in der Kälte.

Mineralsäuren bewirken ebenfalls fast augenblickliche Rotfärbung. Ja, die freie Thyminsäure ist «gegen sich selbst» so empfindlich, daß wässrige Lösungen von thyminsaurem Baryum sofort rot werden, wenn man nur soviel Salzsäure zusetzt, daß nur Thyminsäure, nicht aber Salzsäure in freiem Zustande erscheint. Diese Verharzung durch die eigne Acidität tritt selbst in sehr verdünnten Lösungen ein. Eigentümlich ist es, daß während der Darstellung der Thyminsäure durch Hydrolyse der Nucleinsäure mit verdünnter Schwefelsäure die frisch entstandene Thyminsäure keineswegs sich derart empfindlich gegen Säuren erweist; gelingt es doch, nach der beschriebenen Methode völlig farblose Präparate zu erhalten. Die Empfindlichkeit gegen Säuren steigert sich also dadurch, daß das thyminsaure Baryum isoliert und dabei in trockenem Zustande mit der Luft in Berührung kommt; denn es ist kaum anzunehmen, daß die bei der Hydrolyse entstehenden Nebenprodukte — Guanin- und Adeninsulfat — konservierend auf die Thyminsäure einwirken.

Von konservierendem Einflusse aber sind die Salze der schwefligen Säure. Thyminsaures Natrium, in Lösung mit etwas neutralem Natriumsulfit versetzt, bleibt selbst in Gegenwart von Natronlauge bei gewöhnlicher Temperatur verhältnismäßig ungefärbt, doch erstreckt sich dieser Schutz nicht soweit, daß es gelingen könnte, durch alkalische oder saure Hydrolyse das Kohlenhydrat abzuspalten und zu isolieren.

Aus diesen Ausführungen geht hervor, daß die freie Thyminsäure in trockenem Zustande überhaupt nicht unzersetzt darstellbar ist, bereitet doch schon die Darstellung anderer Salze erhebliche Schwierigkeiten dadurch, daß während der Manipulationen in wässriger Lösung leicht eine Verharzung eintreten kann, besonders dann, wenn man es unternehmen würde, über die freie Säure die anderen Salze darzustellen.

Dies ist nicht gut möglich; man muß schon zur doppelten Umsetzung seine Zuflucht nehmen, muß sich aber dann natürlich gewisse Beschränkungen auferlegen.

Manche Salze mit organischen Basen sind in Alkohol löslich und mit Äther wieder fällbar, so z. B. das Salz der Krystallviolettbase, das, weil in Wasser unlöslich, leicht durch doppelte Umsetzung des thyminsauren Baryums mit käuflichem Krystallviolett gewonnen werden kann. Aus der alkoholischen Lösung kann man dann durch Zusatz von Baryumacetatlösung das Baryumsalz der Thyminsäure wieder durch doppelte Umsetzung zurückgewinnen.

Durch Zusatz von Mineralsäure zur absolut-alkoholischen Lösung des Farbsalzes wurde die freie Thyminsäure in Substanz zu gewinnen versucht, sie ist außerordentlich hygroskopisch und zersetzlich, sodaß der Körper nicht weiter untersucht werden konnte. Der Geschmack der freien Säure ist angenehm säuerlich.

Das Calciumsalz verhält sich ähnlich wie das Baryumsalz. Bleisalze sind in neutraler und alkalischer Lösung unlöslich, in verdünnter Essigsäure hingegen leicht löslich; sie lassen sich aus essigsaurer Lösung auch ganz gut mit Alkohol niederschlagen.

Alkohol ist nur für Baryum-, Calcium- oder Bleisalze ein gutes Fällungsmittel, für das Natriumsalz hingegen nicht, obwohl es in Alkohol unlöslich ist. Setzt man aber bei einem solchen Versuche irgend ein lösliches Baryumsalz hinzu, so erfolgt sofort Fällung unter Bildung des Baryumsalzes durch doppelte Umsetzung.

Thyminsäure ist in schwefelsaurer Lösung nicht fällbar mit Phosphorwolframsäure, wohl aber mit Hopkins Reagens; die Fällung ist aber sehr unvollkommen und eignet sich nicht zur Isolierung der Thyminsäure. Auch Bleiessig und Bleizucker in neutraler bzw. schwach ammoniakalischer Lösung sind Fällungsmittel. Die Bleifällungen sind in verdünnter Essigsäure leicht löslich.

Selbstverständlich gibt das thyminsaure Baryum alle bereits früher erwähnten¹⁾ Reaktionen, die der Gruppe des

¹⁾ R. Feulgen, Diese Zeitschr., Bd. 100, S. 247 (1917).

Glukals eigentümlich sind, und ich verweise hier auf die gegebenen Anweisungen zur Anstellung dieser Reaktionen. Zweckmäßig nimmt man dazu 10%ige Lösungen. Die Aldehydreaktion mit fuchsinschwefliger Säure ist jedoch so empfindlich, daß ein einziger Tropfen einer nur einprozentigen Lösung genügt, um mehrere Kubikzentimeter fuchsinschweflige Säure zu färben. Eine höhere Konzentration ist bei dieser Reaktion schon aus dem Grunde zu vermeiden, weil konzentrierte Baryumsalzlösungen wegen ihrer SO_2 -fällenden Wirkung auch allein eine schwache Färbung der fuchsinschwefligen Säure hervorrufen können.

Die Untersuchungen wurden mit Mitteln aus der Gräfin Bose-Stiftung ausgeführt.

Weitere Versuche, besonders die Darstellung von Derivaten der Thyminsäure, behalte ich mir vor.
