

Oxydation der Guanylsäure zu Xanthylsäure mittels salpetriger Säure.

Von

Martin Knopf.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 30. Juni 1914.)

Von den einfachen pentosehaltigen Nucleinsäuren sind bisher zwei aus dem tierischen Organismus isoliert worden, die Inosinsäure (Hypoxanthylsäure) von Liebig¹⁾ aus dem Muskel und die Guanylsäure von Bang²⁾ aus Rinderpankreas.

Die Existenz der Guanylsäure war dann aber wieder zweifelhaft geworden, bis ihr Vorhandensein und ihre Zusammensetzung, im großen und ganzen den Angaben Bangs entsprechend, durch die Untersuchungen von Steudel³⁾ und Steudel und Brigl außer Zweifel gestellt wurden. Später ist die Guanylsäure auch in anderen Organen aufgefunden worden.

Wahrscheinlich ist die Gruppe der natürlich vorkommenden einfachen Nucleinsäuren mit diesen beiden Substanzen nicht erschöpft, denn da im Tierkörper vier verschiedene Purinbasen vorkommen, von denen je zwei in näherer Beziehung zueinander stehen, so muß man auch die Existenz von vier diesen Basen entsprechenden einfachen Nucleinsäuren voraussetzen.

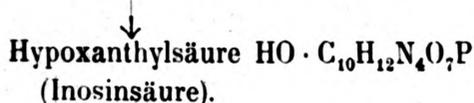
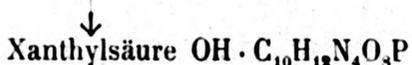
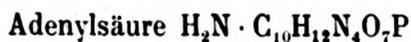
Um die Kenntnis dieser einfachen Nucleinsäuren, die die Basen der Xanthingruppe — Guanin, Xanthin, Adenin, Hypoxanthin — enthalten, zu erweitern, habe ich durch Oxydation der Guanylsäure die Xanthylsäure dargestellt und ihre Eigenschaften studiert.

¹⁾ Annalen d. Chemie, Bd. 62, S. 317 (1847).

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 26, S. 133 (1898/99).

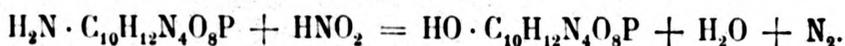
³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 53, S. 539; Bd. 68, S. 40.

Ich gebe eine Übersicht der vier einfachen Pentosenucleinsäuren der Xanthingruppe, von denen nunmehr nur noch die Adenylsäure unbekannt ist.



Experimenteller Teil.

Oxydation der Guanylsäure zu Xanthylsäure mit salpetriger Säure.



20 g guanylsaures Natrium, die aus dem Nucleoproteid vom Rinderpankreas nach der Methode von Bang¹⁾ dargestellt worden waren, werden in einem Filterstutzen von 750 ccm Inhalt in 400 ccm Wasser verteilt; unter Turbinieren gibt man allmählich je 100 g Natriumnitrit und 100 ccm Eisessig hinzu, nach ungefähr 5 Stunden ist eine klare gelbe Lösung entstanden. Um starkes Schäumen zu verhindern, ist der Zusatz einer geringen Menge Äther oder Amylalkohol von Vorteil. Aus der Lösung kann man mit der fünffachen Menge Alkohol die Xanthylsäure als teigige Masse fällen, die nach dem Abgießen der Mutterlauge durch Zusatz von Alkohol und Verreiben gehärtet wird. Das rohe Produkt ist ein gelbes hygroskopisches Pulver. Zu einem reinen Körper kommt man, wenn man die Säure aus der Reaktionsflüssigkeit mit schwefelsaurer Quecksilbersulfatlösung (Hopkinsche Lösung) fällt, wie es Levene²⁾ für die Reindarstellung der Guanylsäure getan hat. Dann entsteht ein weißer voluminöser Niederschlag, der mit kaltem Wasser mehrmals digeriert und dekantiert wird und zum Schluß auf der Nutsche abgesaugt und mit heißem Wasser gewaschen wird. In Wasser suspendiert, wird er sodann mit Schwefelwasserstoff zersetzt, die Lösung zur Ausflockung des kolloidal gelösten Quecksilbersulfides mit Baryumcarbonat geschüttelt und filtriert. Zu dem baryt- und schwefelsäurefreien

¹⁾ loc. cit.

²⁾ Journ. of Biol. Chem., Bd. 12, S. 421.

Filtrat gibt man die berechnete Menge Brucin, in Alkohol gelöst, nachdem man durch Titration die Acidität festgestellt hat. Wenn das Brucinsalz nicht auskrystallisiert, konzentriert man die Lösung bei vermindertem Druck, bis die Ausscheidung beginnt. Etwa überschüssig zugesetztes Brucin wird mit Chloroform extrahiert. Aus 30%igem Alkohol krystallisiert das Salz in schönen langen, farblosen Nadeln, die gegen 200° zu schmelzen beginnen. Zur Analyse wurde das Salz dreimal umkrystallisiert und im Vakuum über P_2O_5 bei 110° getrocknet.

P-Bestimmung: 0,1810 g sättigen 8,4 ccm $\frac{NaOH}{2}$ (Neumann)

Präparat II: 0,2204 „ „ 9,2 „ „ „

N-Bestimmung: 0,1588 „ liefern 12,7 „ N (19,0°, 756 mm).

Präparat II: 0,1511 „ „ 12 „ N (18,5°, 758 „).

Berechnet für $C_{10}H_{13}N_4O_9P \cdot 2 C_{23}H_{26}N_2O_4 = 1152$: N 9,71% P 2,69%

Gefunden: I. 9,30% 2,57%

II. 9,17% 2,31%

Nach dem neuerdings von Heubner¹⁾ angegebenen Faktor 0,575 für die Neumannsche P-Bestimmung ergeben meine P-Analysen die Werte:

I. 2,70% P

II. 2,40% P.

Hydrolyse der Xanthylsäure.

3 g rohe Xanthylsäure, die, wie oben beschrieben, durch Fällung mit Alkohol aus der Desamidierungsflüssigkeit gewonnen waren, wurden in der gleichen Weise, wie Steudel²⁾ zur Isolierung des Guanins aus Guanylsäure verfahren hat, mit 200 ccm 5%iger H_2SO_4 3 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Nach dem Erkalten fällt auf Zusatz von Ammoniak bis zum Neutralpunkt ein gelbgraues Pulver aus, das sich in überschüssigem Ammoniak in der Wärme klar löst und beim Erkalten nicht wieder ausfällt. Nach dem Verdunsten des letzteren wird das Produkt abgesaugt, in überschüssiger Salzsäure gelöst und die dunkle Flüssigkeit durch Aufkochen mit Tierkohle entfärbt. Destilliert man sodann bei vermindertem Druck die Salzsäure ab, so bleibt das Chlor-

¹⁾ Biochem. Zeitschrift, Bd. 64, S. 401.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 53, S. 539.

hydrat des Xanthins zurück. Beim Kochen mit Wasser scheidet sich die Base als weißes Pulver aus.

Zur Analyse wurde die Substanz bei 130° im Vakuum über P₂O₅ getrocknet.

C₅H₄N₄O₂ = 152. 0.0835 g Substanz liefern 27 ccm N (17°, 738 mm).

Berechnet: N = 36,84%

Gefunden: N = 36,51%.

Durch die Abwesenheit von Guanin ist also bewiesen, daß die Guanylsäure völlig desamidiert worden ist.

Die Xanthylsäure ist in Wasser leicht löslich und wird von Säuren nicht gefällt. Sie fällt mit Quecksilbersalzen, Kupfersalzen und Silbersalzen, das erstere ist löslich in Alkalien, die beiden letzteren im Ammoniak. Aus konzentrierten Lösungen fallen allmählich Pikrinsäure und Phosphorwolframsäure die Nucleinsäure aus.

Aus dem Brucinsalz erhält man bei Einwirkung der berechneten Menge Baryumhydroxyd oder Calciumhydroxyd und Ausschütteln des Brucins mit Chloroform in Wasser unschwer lösliche Baryum- oder Calciumsalze, weiße Pulver, die ich nicht zur Krystallisation zu bringen vermochte. Die Analysen der amorphen Produkte ergaben zu hohe Baryum- und Calciumwerte, so daß vermutlich ein Gemisch von neutralem und basischem Salz vorlag. Eine Bestimmung der optischen Drehung der Säure habe ich deshalb noch nicht ausgeführt.

Von anderer Seite soll im hiesigen Laboratorium in gleicher Weise wie für die Guanylsäure die Desamidierung der Hefenucleinsäure ausgeführt werden.
