

0.2580 g Sbst. geben eine Depression von 0.232° in 47.1 g Äthylenbromid.
Mol.-Gew. Gef. 279.

Aus diesen Zahlen läßt sich mit Sicherheit schließen, daß die Verbindung bimolekular ist. Sie wird von Jodmethyl selbst bei 150° nicht verändert.

Dihydrochinaldin-Pikrat. Wird eine alkoholische Lösung der Verbindung mit kalt gesättigter, alkoholischer Pikrinsäurelösung versetzt, so krystallisiert das Salz in dunkelbraunen Stäbchen aus, welche gegen 95° sintern und gegen 110° unter Gasentwicklung sich zersetzen. Im Vakuum-exsiccator färbt sich die Substanz lichter.

0.1130 g Sbst.: 14.6 ccm N (18°, 761 mm).

C₁₀H₁₁N. C₆H₂(NO₂)₃(OH). Ber. N 14.97. Gef. N 14.87.

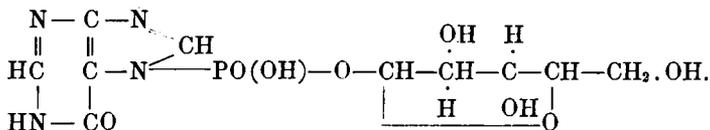
456. P. A. Levene und W. A. Jacobs: Über die Inosinsäure.

[Aus dem Rockefeller Institute for Medical Research, New York.]

(Eingegangen am 13. Juli 1908; vorgetr. in der Sitzung von Hrn. C. Neuberg.)

Die Inosinsäure, welche wegen des Vorhandenseins einer mit Purinbase und Kohlehydrat gepaarten Phosphorsäure im Moleküle als eine einfache Nucleinsäure angesehen werden darf, ist von Liebig¹⁾ im Fleischextrakt entdeckt worden. Ihre wirkliche Natur ist zuerst von Haiser²⁾ eingehend untersucht worden, ohne daß er aber ihre Struktur endgültig aufklären konnte. — Im vorigen Jahre begannen Neuberg und Brahm³⁾ und auch gleichzeitig Bauer⁴⁾ die Säure zu untersuchen; hauptsächlich lag ihnen daran, die Natur des im Molekül vorliegenden Kohlehydrates aufzuklären.

Nach der Annahme von Neuberg und Brahm kommt der Substanz die folgende Zusammensetzung zu:



Die Zuckerkomponente wurde also als *l*-Xylose angesehen. — Nach Bauer soll die Zusammensetzung die folgende sein: (HO)₂PO. CH₂[CH.OH]₃.CH:(C₅H₃N₄O), als Pentose eine *d*,*l*-Arabinose vorliegen.

¹⁾ Ann. d. Chem. **62**, 317 [1847]. ²⁾ Monatsh. für Chem. **16**, 190 [1895].

³⁾ Biochem. Ztschr. **5**, 438 [1901].

⁴⁾ Hofmeisters Beiträge **10**, 345 [1907].

Neuberg und Brahm und auch Bauer nehmen die Existenz einer Pentose-Phosphorsäure an, ohne sie wirklich isoliert zu haben. — Haiser aber hatte die Substanz in Händen, ohne ihre wirkliche Natur aufgeklärt zu haben.

Als die Arbeit von Neuberg und Brahm erschien, war schon einer von uns mit der Darstellung größerer Quantitäten von Inosinsäure beschäftigt. — Die Resultate der letzten beiden Untersuchungen haben uns überzeugt, daß man zu bestimmteren Resultaten nur dann gelangen würde, wenn man größere Mengen vom Ausgangsmaterial zur Verfügung hätte. Deswegen wurde die Arbeit fortgesetzt. — 23 kg Liebigs Fleischextrakt wurden genau nach der Methode von Haiser verarbeitet; wir kamen dadurch in den Besitz von mehr als 120 g des umkrystallisierten Bariumsalses. — Im Durchschnitt erhielten wir 5—6 g pro kg. Wir wollen dabei bemerken, daß der Gebrauch von absolutem Alkohol für die Extraktion kaum nötig ist. Die Ausbeute war grade so gut beim Extrahieren des Fleischextraktes mittels 95prozent. Alkohols. Die Untersuchung wurde auf die Natur der Pentose und auf die Bindungsart der einzelnen Komponenten gerichtet. Die Resultate unserer Untersuchungen lassen die Annahme berechtigt erscheinen, daß das Kohlehydrat mit der Phosphorsäure eine Glykophosphorsäure bildet, und daß die Base an die Aldehydgruppe des Zuckers gebunden ist, und zwar aus den folgenden Gründen:

Wird Inosinsäure mittels verdünnter Schwefelsäure hydrolysiert, so gelangt man zu einem Punkte, bei welchem die ursprüngliche Linksdrehung sich in Rechtsdrehung umwandelt; dann bleibt die Drehung längere Zeit konstant. An diesem Punkt der Hydrolyse gelang es uns, ein Kupfersalz und zwei Bariumsalze, eines in schön krystallinischer Form, einer gepaarten Phosphorsäure zu gewinnen. Die Säure besaß stark reduzierende Eigenschaften für Fehlingsche Lösung. Die Substanz ist beim Kochen mittels Säuren ziemlich resistent. Im Gegensatz dazu änderte sich das ursprüngliche Drehungsvermögen der Lösung bei langdauerndem Erhitzen mit Alkalien nicht wesentlich. Die Lösung enthält dabei keine freie Base und kein freies Kohlehydrat, wohl aber freie Phosphorsäure, und es gelingt so, einen Komplex zu erhalten, welcher scheinbar aus Kohlehydrat und Hypoxanthin besteht.

Über die Natur des Fünfkohlenstoff-Zuckers sind wir bisher zu einer bestimmten Ansicht nicht gelangt. Die analytischen Zahlen, welche Liebig und Haiser angeben, stimmen am besten für eine Pentose, auch der Wasserstoffgehalt der von uns dargestellten gepaarten Phosphorsäure scheint diese Ansicht zu bestätigen. Es erwies

sich aber als ganz unmöglich, Beweise für das Vorliegen einer Arabinose oder einer Xylose beizubringen. Bei der Destillation der Inosinsäure, wie auch bei der des zweibasischen Bariumsalzes der gepaarten Phosphorsäure waren die Ausbeuten an Furfurol zu gering im Vergleich mit denen, die man bei Anwesenheit einer Arabinose oder einer Xylose erwarten durfte. Alle Bemühungen, ein Phenylsazon mit den Eigenschaften eines Xylosazones oder eines Arabinosazones zu erhalten, waren vergeblich, obwohl die Spaltung solange fortgesetzt wurde, daß die ursprünglich linksdrehende Lösung eine konstante Rechtsdrehung annahm. Bei der Oxydation mittels Brom und gleichzeitiger Spaltung mittels Bromwasserstoffsäure erhielten wir keine Xylonsäure, auch keine Arabonsäure, sondern ein Produkt, welches noch gebundene Phosphorsäure enthielt und nicht mehr reduzierte. Auf Grund dieser Beobachtungen wären wir bereit, die Anwesenheit einer Tetrosecarbon-säure anzunehmen, wenn der Wassertoffgehalt der Inosinsäure dieser Ansicht nicht widerspräche. Weitere Versuche über die Oxydation der Inosinsäure sind jetzt im Gange, sie sollen auch diese Frage aufklären.

Es wurde auch daran gedacht, daß im Moleküle der Inosinsäure vielleicht noch eine Hexose vorläge. Es gelang uns aber nicht, aus 5 g des Bariumsalzes nach der üblichen Behandlung Lävulinsäure nachzuweisen.

Experimenteller Teil.

10.0 g inosinsaures Barium wurden vom Barium befreit und mit 200 ccm 5-proz. Schwefelsäure bei 50° im Ostwaldschen Thermostaten 96 Stunden erhitzt. Die ursprüngliche Drehung war -0.5° (im 1-dm-Rohr). Nach 96 Stunden erreichte die Drehung $+0.33^{\circ}$ und blieb dann konstant.

Das Experiment wurde dann unterbrochen. Das Hypoxanthin wurde mittels Silbersulfat entfernt, das Filtrat vom Silber mittels Schwefelwasserstoff befreit und die Schwefelsäure und Phosphorsäure mittels Bariumcarbonat entfernt. Die resultierende Lösung enthielt die Bariumsalze der unzerstört gebliebenen Inosinsäure und der Kohlehydrat-phosphorsäure. Um diese zu trennen, haben wir die Lösung bis zu einem ganz kleinen Volumen bei 35° eingedampft, und bei 0° 24 Stunden lang stehen gelassen. Das Bariumsalz der Inosinsäure krystallisierte dabei aus. Das Filtrat wurde weiter eingedampft und wieder bei 0° stehen gelassen. Der sich hierbei bildende kleinere Niederschlag wurde abfiltriert und das Filtrat mit dem gleichen Volumen Alkohol behandelt. Es bildete sich dabei ein klebriger Niederschlag, welcher beim Stehen bei 0° eine harte, spröde Konsistenz annahm. Der Niederschlag wurde dann abfiltriert, mit Alkohol und Äther gewaschen und im Vakuum-Exsiccator über Schwefelsäure bis zum konstanten Gewicht getrocknet. Seine Menge betrug dann 2.5 g. Dieser Niederschlag enthielt kaum Spuren von Stickstoff und Phosphorsäure und reduzierte Fehlingsche Lösung beim Er-

hitzen. Das Salz wurde mit einer kleinen Menge Wasser ausgekocht: der größere Teil ging in Lösung über, beim Stehen im Eisschrank bildete sich kein Niederschlag mehr. Die Lösung wurde dann mit dem gleichen Volumen Alkohol behandelt, es bildete sich wieder ein amorpher Niederschlag, welcher nach längerem Stehen harte Konsistenz annahm. Er wurde dann abfiltriert und mit wenig heißem Wasser behandelt; der unlösliche Teil abfiltriert, mit Alkohol und Äther gewaschen und zur Analyse gebracht.

Die Substanz enthielt keinen Stickstoff, keine freie Phosphorsäure und reduzierte Fehlingsche Lösung beim Erhitzen.

0.1026 g der Substanz bei 100° im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet: 0.0700 g $\text{Ba}_3(\text{PO}_4)_2$.

$\text{Ba}_3(\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_8\text{P})_2$. Ber. Ba 69.48. Gef. Ba 68.22.

0.1782 g Bariumsalz, in 1.2 ccm *n*-HCl (1 Mol.) und 3 ccm H_2O gelöst, drehen in $\frac{1}{2}$ -dm-Rohr bei Na-Licht 0.08° nach rechts. Gesamtgewicht der Lösung 4.9009 g, mithin $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = 4.4^\circ$.

Aus der Mutterlauge wurde durch fraktionierte Fällung mittels Alkohol noch eine Bariumverbindung einer geparten Phosphorsäure erhalten, welche dieselbe Zusammensetzung besaß.

Experiment 2.

10.0 g des Bariumsalzes wurden von Barium mittels Schwefelsäure befreit und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in 200 ccm 5-prozentiger Schwefelsäure aufgelöst. Die Lösung wurde nur 3 Tage auf 50° erhitzt. Das Hypoxanthin wurde dann mittels Silbersulfat entfernt und das Filtrat mit Schwefelwasserstoff behandelt. Das Filtrat wurde dann mit Bariumcarbonat 10 Minuten gekocht. Das Filtrat wurde auf ein kleineres Volumen eingedampft und im Eisschrank der Krystallisation überlassen. Nach 48 Stunden wurde das Bariumsalz der noch unveränderten Inosinsäure beinahe vollständig ausgeschieden. Das Filtrat, dessen Menge ungefähr 5 ccm betrug, wurde im Eisschrank bei 0° stehen gelassen. Nach einigen Wochen begannen sich dicke, grobe Krystallbüschel auszuscheiden, und nach mehreren Tagen war die Krystallisation vollendet. Die Krystalle wurden abgesaugt, mit Wasser gewaschen und an der Luft getrocknet. Die Ausbeute betrug 1.5 g. —

Das Salz war frei von freier Phosphorsäure, aber nach dem Zersetzen mittels Salpetersäure zeigte es eine starke Phosphorsäurereaktion. Es reduzierte Fehlingsche Lösung stark, und gab mittels Orcin und Salzsäure die charakteristische Pentosereaktion und enthielt keinen Stickstoff. Das Salz war in kaltem Wasser schwer löslich; beim Erhitzen erlitt es eine teilweise Zersetzung unter gleichzeitiger Ausscheidung eines basischen Bariumsalzes, welches aller Wahrscheinlichkeit nach mit dem im vorigen Experimente erhaltenen Bariumsalze identisch ist. Deshalb wurde das Salz nicht umkrystallisiert und zur Analyse gebracht. Das Salz enthielt Krystallwasser. Das lufttrockne Präparat wurde im Vakuum über Phosphorpentoxyd bei 78° bis zum konstanten Gewicht erhitzt.

0.1797 g der Substanz verloren 0.0353 g Wasser.

$C_5H_7O_9PbA + 5H_2O$. Ber. 19.19.

$C_5H_9O_8PbA + 5H_2O$. Ber. 19.78.

Gef. 19.65.

0.1701 g lufttrockenes Präparat gaben 0.0798 g CO_2 , 0.0648 g H_2O . —
0.1994 g lufttrockene Substanz gaben 0.0988 g $BaSO_4$.

$C_5H_7O_9PbA + 5H_2O$. Ber. C 12.60, H 3.62, Ba 29.29.

$C_5H_9O_8PbA + 5H_2O$. Ber. » 13.19, » 4.17, » 30.20.

Gef. » 12.81, » 4.23, » 29.13.

Um zu sehen, ob das Furfurol, welches durch die Destillation mittels Salzsäure erhalten wurde, einer Pentose entspricht, haben wir eine Furfurolbestimmung gemacht. Die Substanz wurde mittels Salzsäure (spez. Gew. 1.6) destilliert, bis ungefähr 500 ccm übergegangen waren und kein Furfurol mehr im Destillat zu bemerken war.

So wurden aus 0.1994 g des Salzes 0.0184 g des Phloroglucides erhalten, also ungefähr $\frac{1}{3}$ von der erwarteten Menge, wenn das Kohlehydrat eine Pentose wäre. In gleicher Weise haben wir das Bariumsalz der Inosinsäure selbst behandelt und zwar mit ähnlichem Erfolge. Es wurden aus 0.5207 g des Bariumsalzes nur 0.0313 g Phloroglucid erhalten, während eine Pentose im Moleküle ungefähr 0.12 g Phloroglucid erfordert. Dieses Resultat steht innerhalb der Versuchsfehler gerade im richtigen Verhältnis mit der Zahl aus der Kohlehydrat-Phosphorsäure.

Dieses Resultat steht allerdings im Widerspruch mit der Angabe von Neuberg und Brahm, die Furfurol, entsprechend einer Xylose, erhalten haben wollen, und mit denen von Bauer, welcher eine Ausbeute an Furfurol, einer Arabinose entsprechend, fand. Nach unserer Erfahrung sind wir nicht berechtigt, eine Xylose oder eine Arabinose im Moleküle anzunehmen.

Experiment 3. Alkalische Hydrolyse.

5.0 g des Bariumsalzes wurden vom Barium befreit und mit einem Mol-Gew. Natriumhydroxyd behandelt. Die Lösung wurde im Vakuum zur Trockne eingedampft und der Rückstand in 100 ccm 5-prozentiger Kalilauge aufgelöst und im Ölbad auf 130—140° erhitzt. Das ursprüngliche Drehungsvermögen der Substanz betrug -2.05° (im 1.9-dm-Rohr). Nach 14-stündigem Erhitzen änderte sich das Drehungsvermögen nicht mehr wesentlich. Die Lösung reduzierte Fehlingsche Lösung nicht; mittels ammoniakalischer Silberlösung gelang es nicht, einen Niederschlag zu erhalten. In 20 ccm der ursprünglichen Lösung wurde eine Phosphorsäurebestimmung ausgeführt. Die Lösung wurde mit kalter Salpetersäure angesäuert und mit Ammoniummolybdatlösung behandelt. Ein Erhitzen der Lösung wurde vermieden. Aus dem Molybdänniederschlag gelang es, 0.0553 g $Mg_2P_2O_7$ zu gewinnen. Dabei wurden also 30 % der ursprünglichen Phosphorsäure abgespalten.