

n	14.67	16.67	18.67	19.87
ccm				
$K \cdot 10^3$	6.80	8.49	10.5	11.4
$\Omega^{-1} \text{cm}^{-1}$				
0°				

Stellt man die Abhängigkeit der beiden Variablen graphisch dar (n Abszisse, K Ordinate), so erhält man eine Kurve mit zwei scharfen Knicken.

Erster Knick bei $n_1 = 3.34$ ccm (Maximum); zweiter Knick bei $n_2 = 13.80$ ccm (Minimum).

Zur Neutralisierung der Essigsäure werden also $1.283 \cdot 10^{-3}$ Mole Lauge verbraucht, berechnet sind $1.293 \cdot 10^{-3}$ Mole. Der Ersatz von Ammonium durch Natrium (Leitfähigkeitsrückgang) verlangt $13.80 - 3.34 = 10.46$ ccm Lauge, also sind zum Austreiben des Ammoniaks erforderlich $4.02 \cdot 10^{-3}$ Mole Lauge.

Der Versuch ergibt also $4.02 \cdot 10^{-3}$ Mole Ammoniak; angewandt wurden $3 \cdot 1.293 \cdot 10^{-3} = 3.88 \cdot 10^{-3}$ Mole Ammoniak.

Die Chromrhodanessigsäureverbindung verhält sich also auch bei diesem Titrationsversuche ganz wie die entsprechende Molybdänsubstanz; damit ist ein neuer (indirekter) Beweis für die Dreiwertigkeit des Molybdäns in den gelben Rhodaniden gegeben.

541. C. Neuberg und B. Brahn: Über Inosinsäure.

[Aus d. Chem. Abteilung d. Pathologischen Instit. d. Universität Berlin.]
(Eingeg. am 1. Oktober 1908; vorgetragen in der Sitzung am 27. Juli 1908 von Hrn. C. Neuberg.)

Durch unsere früheren Versuche¹⁾ ist die Zusammensetzung der Inosinsäure dahin aufgeklärt, daß nur drei Bestandteile an ihrem Aufbau beteiligt sind, Phosphorsäure, Hypoxanthin und Pentose. Aus der Inosinsäure, für die mit aller Schärfe die Formel $C_{10}H_{13}N_4O_8P$ nachgewiesen ist, entstehen die drei Spaltungsprodukte bei der Hydrolyse nach der Gleichung:

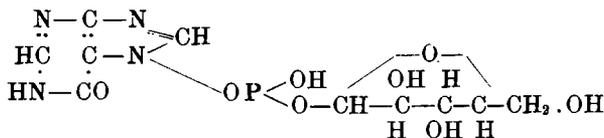


Die Pentose wurde in Form ihres Phenylsazons als *l*-Xylose (bezw. *d*-Lyxose) charakterisiert.

Auf Grund dieser Befunde einerseits und der Möglichkeit andererseits, die Hydrolyse so zu leiten, daß intermediär eine Pentose-

¹⁾ C. Neuberg u. B. Brahn, Biochem. Ztschr. 5, 439 [1907].

phosphorsäure auftritt, und im Verein mit Burians¹⁾ Ausführungen über die direkte Verknüpfung von Purinen mit der Phosphorsäure in den Nucleinsäuren konnten wir für die Inosinsäure folgendes vorläufige Formelbild aufstellen:



Dabei ist der Vorbehalt selbstverständlich, daß die verschiedenen Anhydridbildungen auch an anderen Stellen erfolgt sein können.

Die wesentlichsten Punkte unserer Befunde, die alleinige Zusammenfügung der Inosinsäure aus den drei Bestandteilen Phosphorsäure, Hypoxanthin und Pentose, sind seitdem durch die Arbeit von Fr. Bauer²⁾ aus dem Hofmeisterschen Laboratorium bestätigt worden, der gleichfalls den glatten Zerfall der Inosinsäure in diese drei Spaltungsprodukte nachwies. Eine Differenz zwischen unseren und Bauers Angaben besteht nur bezüglich der Natur der Pentose; während wir sie als *l*-Xylose erkannten, betrachtet sie Bauer als racemische Arabinose.

Bei dem Interesse, das die Inosinsäure als der einfachste und der einzige in kristallisierten Salzen bekannte Vertreter der Nucleinsäuren beansprucht, war die Aufklärung dieser Differenz von Wichtigkeit.

Bauer hat wie wir die Pentose als Phenylosazon abgeschieden; wir hatten den Schmelzpunkt zu 159—160° angegeben, während er 158—159° findet.

Die Diagnose auf racemische Arabinose hat Bauer nun im wesentlichen daraufhin gestellt, daß er bei der polarimetrischen Untersuchung von 0.05 g (!) Osazon keinerlei Drehung beobachtete; er hat sich des Pyridin-Alkohol-Verfahrens von Neuberg³⁾ bedient. Bei diesem zeigen 0.20 g *l*-Xylosazon (in 4.0 ccm Pyridin + 6.0 ccm absolutem Alkohol) die Drehung $-0^\circ 15'$. Bauer, der für 0.05 g Osazon ebenfalls die obige Mischung (= 10.0 ccm) anwandte, konnte also nur einen Drehungswinkel von $-0^\circ 0375'$ (!) erwarten. Das ist ein Wert, der für die gefärbten Osazonlösungen bereits außerhalb der Grenzen sicherer Wahrnehmbarkeit liegt.

¹⁾ R. Burian, diese Berichte **37**, 696 [1904] u. Ztschr. für physiol. Chem. **51**, 425 [1907].

²⁾ Fr. Bauer, Beiträge zur chem. Physiolog. u. Patholog. **10**, 345 [1908].

³⁾ Diese Berichte **32**, 3384 [1899].

Trotzdem haben wir noch auf anderem Wege die Gegenwart der *l*-Xylose und die Abwesenheit der racemischen Arabinose festgestellt.

Wie wir schon früher betont haben, müßte die vollständige Hydrolyse der an sich linksdrehenden Inosinsäure zu einer dextrogyren Lösung von *l*-Xylose führen. Zu einer solchen waren wir früher nicht gelangt. Nunmehr kamen wir zum Ziele, indem wir statt der früher zur Spaltung benutzten 5-prozentigen Schwefelsäure eine Säure von 2% anwandten. Nach Entfernung des Hypoxanthins und der Phosphorsäure, sowie der Schwefelsäure wurde ein Sirup erhalten, dessen in heißem Alkohol von 90% löslicher Teil frei von Phosphorsäure war, Fehlingsche Lösung reduzierte, intensive Pentosenreaktion gab und in wäßriger Lösung nach rechts drehte¹⁾. Aus einer solchen Flüssigkeit, die 0.80 g Pentose enthielt, hätte mit Leichtigkeit die Abscheidung von *d,l*-Arabinose als Diphenylhydrazon gelingen müssen. Dasselbe ist die am schwersten lösliche und am leichtesten krystallisierende Verbindung von sämtlichen Raumformen der Arabinose²⁾. Das Hydrazon entstand jedoch nicht, fiel aber nach Zugabe von nur 0.02 g *d,l*-Arabinose in wenigen Minuten in den bekannten voluminösen Nadeln aus. Damit ist das Vorkommen von *d,l*-Arabinose unter den Spaltungsprodukten der Inosinsäure mit Sicherheit ausgeschlossen, und die Folgerungen, die Bauer bezüglich einer Entstehung der racemischen Arabinose bei Pentosurie aus der Inosinsäure gezogen hat, werden damit hinfällig³⁾.

Eine einfache theoretische Erwägung zeigt überdies sofort die Unmöglichkeit eines Vorkommens von racemischer Arabinose in der Inosinsäure.

Auf die von den früheren Autoren übersehene optische Aktivität der Inosinsäure haben wir schon in unserer ersten Mitteilung die Aufmerksamkeit gelenkt. Das Drehungsvermögen ist ziemlich erheblich; es beträgt für die salzsaure Lösung (0.3062 g Ba-Salz in 10.0 ccm HCl von 2.5%)

$$[\alpha]_D^{16} = -18.5^\circ.$$

¹⁾ Auch Levene u. Jacobs (s. u.) erhielten bei der Säurehydrolyse der Inosinsäure dextrogyre Lösungen.

²⁾ C. Neuberg, diese Berichte **33**, 2243 [1900].

³⁾ Dasselbe gilt für seine Angaben über die sogenannte »freie Pentose des Fleischextraktes«. Wie wir schon früher mitgeteilt haben, findet sich in der Mutterlauge der Inosinsäure noch reichlich Pentose. Im Gegensatz zu Bauers Angabe ist dieser Fünfkohlenstoffzucker jedoch nicht frei, sondern in gebundenem Zustande zugegen. Wir erhielten nach der Zerlegung der Bleiessig-Ammoniak-Fällung etc. keine inaktive Arabinose, sondern linksdrehende Lösungen, in denen wohl das Inosin von Haiser und Wenzel (s. u.) vorhanden ist.

Von den drei Spaltungsprodukten der Inosinsäure, Phosphorsäure, Hypoxanthin und Pentose, kann allein letztere Trägerin der optischen Aktivität sein. Bedingungen, denen z. B. die Glycerinphosphorsäure ihr Drehungsvermögen verdankt, können bei einem Racemkörper nicht bestehen. Es sind nämlich, wenn wirklich inaktive Arabinose sich am Aufbau der Inosinsäure beteiligte — wie auch immer die Verknüpfung von Pentose, Phosphorsäure und Hypoxanthin sei — zwei Möglichkeiten vorhanden. Entweder existieren in der Lösung die Formen vom Typus α -Methyl-*d*-glucosid + α -Methyl-*l*-glucosid oder α -Methyl-*d*-glucosid + β -Methyl-*l*-glucosid. Die erste Kombination besteht aus wirklichen optischen Antipoden, deren Drehungsvermögen sich aufhebt; sie ist also optisch inaktiv und kann demnach nicht der lävogyren Inosinsäure entsprechen. Die zweite Kombination kann optisch aktiv sein, sie stellt aber überhaupt keine einheitliche chemische Substanz dar, sondern höchstens eine Art partiell-racemischer Verbindung. Ganz abgesehen davon, daß die Existenz der partiellen Racemate, die an bestimmte Temperaturgrenzen geknüpft ist, zu den größten Seltenheiten zählt und daß in der Natur keine Neigung zu ihrer Bildung besteht, müßte sich Inosinsäure leicht in ungleich drehende Konstituenten zerlegen lassen. Verschiedene dahinzielende Versuche hatten ein völlig negatives Resultat. Sowohl durch fraktionierte Krystallisation als bei Darstellung der Inosinsäure auf verschiedenen Wegen erhält man Produkte von gleichem Drehungsvermögen. Demnach lehrt bereits die optische Aktivität der Inosinsäure, daß in ihr keine *d*,*l*-Arabinose vorgebildet ist.

Mit den Angaben über Inosinsäure, die im letzten Hefte dieser Berichte (S. 2703) Levene und Jacobs gemacht haben, stehen unsere Erfahrungen und die von Bauer in vielfachem Gegensatze.

1. Wir und Bauer haben aus der Inosinsäure nach der Hydrolyse glatt ein Pentosazon erhalten, den amerikanischen Autoren mißlang die Darstellung. Inzwischen haben übrigens auch F. Haiser und F. Wenzel¹⁾ aus der Inosinsäure (und dem ihr nahestehenden Inosin) Pentosazon gewonnen.

2. Bei der Furfurol-Destillation nach Tollens erhielten wir sowie Bauer die für 1 Mol. Pentose recht gut stimmenden Mengen Furfurol-phloroglucid, Levene und Jacobs dagegen viel zu wenig.

Wir haben schon früher darauf hingewiesen, daß man die Destillation mit Salzsäure bei der Inosinsäure viel länger als gewöhnlich ausdehnen muß; allem Anscheine nach haben die amerikanischen Autoren diesen Punkt nicht beachtet. Es kann am Vorkommen von Pentose im Molekül der Inosinsäure im Verhältnis 1:1 kein Zweifel herrschen. Den abweichenden Angaben von Levene stehen die positiven Befunde von Neuberg, Brahn, Bauer, Haiser und Wenzel gegenüber.

3. Die Annahme von Levene und Jacobs, daß an Stelle des Fünfkohlenstoffzuckers, $C_5H_{10}O_5$, eine Tetrose-carbonsäure in der

¹⁾ Monatsh. für Chem. 29, 157 [1908].

Inosinsäure stecke, schwebt völlig in der Luft. Was sie hierunter auch verstehen mögen — entweder eine Säure $\text{CH}_2(\text{OH})\cdot[\text{CH}\cdot\text{OH}]_2\cdot\text{CH}(\text{OH})\cdot\text{COOH} = \text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_6$, oder $\text{CHO}\cdot[\text{CH}\cdot\text{OH}]_2\cdot\text{CH}(\text{OH})\cdot\text{COOH}$, $= \text{C}_5\text{H}_8\text{O}_6$, — kann schon aus analytischen Gründen nicht in Betracht kommen. Keine dieser Säuren zeigt ferner die Pentosenreaktion mit Orcin, keine gibt bei der Destillation mit Salzsäure Furfurol, erstere reduziert überhaupt nicht, letztere reduziert zwar, gibt aber in intensiver Weise die Naphtoresorcin-Probe von Tollens, die der Inosinsäure vor wie nach der Hydrolyse fehlt¹⁾ u. a. m.

4. Levene und Jacobs erwähnen weiter die Darstellung eines Komplexes aus der Inosinsäure, der ihrer Meinung nach den Kohlehydratrest gebunden an Hypoxanthin enthält. Wenn diese Kombination in der Inosinsäure präformiert ist, so würde daraus zu folgern sein, daß Burians Ansicht von der Bindung der Purine an die Phosphorsäure im vorliegenden Falle nicht zutrifft. Das Formelbild der Inosinsäure müßte dann eine entsprechende Änderung²⁾ erfahren. Allerdings ist die Pentose-Hypoxanthin-Verbindung insofern hypothetisch, als die amerikanischen Autoren dieselbe nicht isoliert haben, ferner erlauben Umwandlungen, die durch 14-stündiges Erhitzen mit Ätzkali auf 140° zustande kommen, bei kohlehydrathaltigen Substanzen kaum Rückschlüsse.

Es scheint uns nicht überflüssig, unsere Erfahrungen bez. der Darstellung von Inosinsäure mitzuteilen. Die Haisersche Vorschrift³⁾ ist zweifellos die beste und kaum verbesserungsbedürftig. Sie läßt sich jedoch verbilligen. An Stelle des Silbernitrats kann einfach Kupferacetat zur Ausfällung der Inosinsäure verwendet werden. Die Verarbeitung bleibt dieselbe, ebenso die Ausbeute. Die Vorbehandlung des Fleischextraktes mit Knochenkohle, die nach Bauer eine langwierige Filtration zur Folge hat, und die Fällung mit Bleiacetat haben sich uns nicht bewährt; es kann wohl nicht zweifelhaft sein, daß einem Gemische wie Fleischextrakt gegenüber Cupriacetat ein spezielleres Fällungsmittel als essigsäures Blei darstellt. Das Ausziehen des Fleischextraktes mit Alkohol ist an sich zur Darstellung der Inosinsäure unnötig; man wird jedoch nur ungern darauf verzichten, da

¹⁾ J. A. Mandel u. C. Neuberg, *Biochem. Ztschr.* **13**, 148 [1908].

²⁾ Abgesehen davon, daß die Bauersche Inosinsäureformel, $[(\text{OH})_2\text{PO}\cdot\text{O}\cdot\text{CH}_2\cdot[\text{CH}\cdot\text{OH}]_2\cdot\text{CH} : (\text{C}_5\text{H}_3\text{N}_3\text{O})]$, 1 Wasserstoffatom zuviel enthält, lassen sich gegen die durch sie zum Ausdruck kommende Aldehydverknüpfung der Pentose manche Bedenken erheben. Nach bekannten Analogien würde sich eine so gebaute Verbindung wohl anders verhalten.

³⁾ *Monatsh. für Chem.* **16**, 190 [1895].

es die leichte Isolierung zweier wertvoller Substanzen, des Kreatinins und der Fleischmilchsäure, neben der Inosinsäure ermöglicht. Ein Ersatz des absoluten Alkohols bei der Erschöpfung des Fleischextraktes gegen 95-prozentigen, den Levene und Jacobs empfehlen, ist geradezu schädlich. Denn es dauert länger, bis der Fleischextrakt bröckelig wird, und es gehen nicht unerhebliche Mengen des inosinsauren Kaliums durch die Löslichkeit in verdünntem Spiritus verloren.

**542. A. Binz und E. Isaac:
Rongalitsäure, Basen und Formaldehyd.**

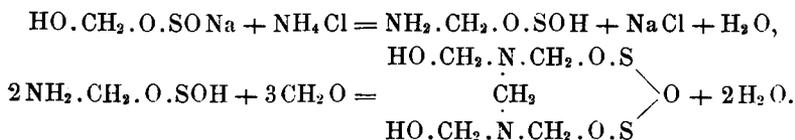
[5. Mitteilung über Hydrosulfit¹⁾ aus dem Chem. Institut der Handelshochschule Berlin.]

(Eingegangen am 1. Oktober 1908; vorgetragen in der Sitzung am 12. Oktober von Hrn. A. Binz.)

Rongalit nennt die Badische Anilin- und Sodafabrik das formaldehydsulfoxylsaure Natrium, $\text{CH}_2\text{O} \cdot \text{NaHSO}_2$; dieser Handelsname (rongeage = Ätze im Zeugdruck) ist sehr bezeichnend und soll hier der Kürze halber nebst dem entsprechenden für die freie Säure angewandt werden.

Reinking, Dehnel und Labhardt²⁾ erhielten aus Rongalit und Toluidin ein Kondensationsprodukt der Formel $\text{C}_7\text{H}_9 \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{O} \cdot \text{SONa}$ und ähnliche Körper mit Hilfe von Anilin und Ammoniak. Ganz andere Produkte entstehen, wenn man an Stelle der freien Basen ihre Chlorhydrate anwendet und gleichzeitig Formaldehyd zusetzt. Das Natrium tritt mit dem Chlor aus, es bildet sich also primär eine Verbindung der Rongalitsäure und der betreffenden Base. Diese reagiert mit dem Formaldehyd unter Bildung eines Niederschlages.

Der mit Salmiak entstehende reduziert in der Wärme Indigocarmin und ist eine luftbeständige Sulfoxyilverbindung $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{O}_5\text{N}_2\text{S}_2$. Beim Erhitzen mit wäßrigem Alkohol tritt Autoxydation und Ausscheidung der krystallinischen, aminomethylschwefligen Säure, $\text{NH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{O} \cdot \text{SO}_2\text{H}$, ein, die Reinking, Dehnel und Labhardt beschrieben haben. Danach kann man folgende Reaktionen annehmen:



Der Ringschluß ist allerdings hypothetisch, auch läßt sich die Molekulargröße leider nicht feststellen, da die Substanz in keinem Solvens ohne

¹⁾ Diese Berichte **40**, 3855 [1907]. ²⁾ Diese Berichte **38**, 1077 [1905].