

Zur Kenntniss der Inosinsäure

von

F. Haiser.

(Aus dem I. chemischen Laboratorium der k. k. Universität in Wien.)

(Vorgelegt in der Sitzung am 7. Februar 1895.)

J. v. Liebig¹ entdeckte gelegentlich seiner classischen Untersuchung: »Über die Bestandtheile der Flüssigkeit des Fleisches«, eine Substanz, welche er als Inosinsäure bezeichnete und deren Zusammensetzung er zu $C_{10}H_{14}N_4O_{11}$ festgestellt hat. Da die freie Inosinsäure nicht in krystallisirtem Zustande erhalten werden konnte, so hat er die gegebene Formel aus den Analysen des Baryum- und Kalisalzes abgeleitet.

Die Inosinsäure, welche in der Fleischflüssigkeit in sehr geringer Menge enthalten ist, wurde dann später von Gregory² im Hühnerfleische aufgefunden. Diese Angabe bestätigte Creite,³ welcher die Säure auch in vielen anderen Fleischsorten nachwies und quantitativ bestimmte. Aus den Angaben, die Creite macht, ist zu ersehen, dass das Entenfleisch den grössten Gehalt an Inosinsäure besitzt.

Limpricht⁴ hat im Jahre 1865 eine Untersuchung über die Fleischflüssigkeit der Häringe ausgeführt und unter Anderem eine Substanz erhalten, von welcher er angibt, dass sie möglicherweise identisch mit inosinsaurem Baryum sei, der er aber auf Grund seiner Analysen die Formel $C_{13}H_{17}Ba_2N_5O_{14}$ ertheilte.

¹ Ann. der Chemie und Pharmacie, 62, 317—326.

² Über den Gehalt einiger Fleischsorten an Kreatin. Ann. der Chemie und Pharmacie, 64, 107.

³ Zeitschrift für rationelle Medicin, 36, 195.

⁴ Ann. der Chemie und Pharmacie, 133, 301.

Die divergirenden Angaben über das Vorkommen der Inosinsäure, der Umstand, dass über die Constitution derselben nichts ermittelt worden ist, veranlassten mich, eingehende Studien über diese interessante Verbindung, deren Existenz aus dem hierüber Vorliegenden nicht einmal ausser Zweifel war, anzustellen, und ich will im Folgenden über die Resultate einer diesbezüglichen Untersuchung berichten, aus der mit Bestimmtheit hervorgeht, dass die Inosinsäure in fast allen Fleischsorten enthalten ist, und durch welche die in der Literatur verzeichneten Angaben rectificirt werden.

J. v. Liebig und auch die späteren Bearbeiter dieser Verbindung haben dieselbe aus dem Muskelfleischsaft mit Hilfe der schwerlöslichen Baryumverbindung abgeschieden, nachdem vorher die krystallisationsfähigen Körper, wie Kreatin, Kreatinin, Inosit etc. entfernt worden waren. Um das lästige Extrahiren von Fleisch zu umgehen, habe ich zunächst für die Darstellung der Säure ein anderes Rohmaterial gesucht, und habe gefunden, dass der Fleischextract, der den Namen »Liebig's Fray Bentos« führt, ein vorzügliches Ausgangsproduct für die Darstellung dieser Substanz ist. Weiterhin habe ich getrachtet, die Abscheidung des Kreatin und Kreatinin durch Krystallisation zu umgehen.

Bekanntlich scheiden sich diese Körper aus der concentrirten Lösung des Fleischextractes nur sehr langsam und unvollkommen ab, auch ist eine Trennung des Auskrystallisirten von der Mutterlauge weder durch Pressen noch durch Absaugen zu erzielen.

Ich will die Vorversuche, die angestellt werden mussten, nicht weiter beschreiben, sondern will gleich damit beginnen, eine zuverlässige Vorschrift zu geben, nach welcher man in möglichst einfacher Weise im Stande ist, aus dem Fleischextract oder auch aus dem Extracte einer Muskelflüssigkeit beliebiger Abkunft die Inosinsäure in Form ihres Baryumsalzes abzuscheiden und zu gewinnen.

Darstellung des inosinsauren Baryum.

Je 1 kg Fleischextract wird in einen geräumigen Kolben (8 l) gebracht und mit absolutem Alkohol am Rückflusskühler

extrahirt. Der Alkohol löst das vorhandene Kreatinin, Kreatin, die Milchsäure, Extractionsstoffe etc. auf, wodurch er nach mehrstündigem Kochen eine tief dunkelbraune Farbe annimmt. Nachdem derselbe noch heiss abgegossen, behandelt man den Rückstand mit neuen Mengen absoluten Alkohols so lange, bis der Rückstand in eine zerreibliche, krümmliche oder sandige Masse (*A*) verwandelt ist. Um dies zu erreichen, ist ein 3—4 maliges Erneuern des Alkohols erforderlich. Der Rückstand enthält neben mineralischen Phosphaten, Chloriden, leimartigen Substanzen etc. fast die gesammte Menge der inosinsauren Salze. Schon Liebig hat die Unlöslichkeit der inosinsauren Salze in absolutem Alkohol hervorgehoben. Der in Alkohol lösliche Theil, den ich mit (*B*) bezeichnen will, scheidet nach dem Abdestilliren des Alkohols reichliche Quantitäten von Kreatinin etc. aus.

Nachdem ich mich überzeugt habe, dass in dieser Lösung Inosinsäure nicht vorhanden war, bin ich auf die Untersuchung dieses Theiles vorläufig nicht weiter eingegangen.

Der Rückstand (*A*) wird, nachdem der Alkohol an der Luft abgedunstet ist, in mässig warmem Wasser (circa 2—3 *l*) gelöst, die Lösung, welche eine dunkelbraune Farbe besitzt, filtrirt, um eine nicht unerhebliche Menge von phosphorsaurem Kalk zu entfernen. Das Filtrat enthält noch Phosphorsäure, an Kali gebunden, und wird desshalb mit einer kalt gesättigten Lösung von Ätzbaryt behandelt. Diese Operation muss mit sehr grosser Vorsicht durchgeführt werden, weil sonst die Ausbeute an Inosinsäure eine beträchtliche Einbusse erfährt. Bei Zugabe von zu grossen Mengen des Fällungsmittels kann möglicherweise die ganze Inosinsäure verloren gehen. Der Grund hiefür liegt, wie ich gleich hier bemerken will, darin, dass die Säure ein basisches Baryumsalz liefert, welches selbst von siedendem Wasser nicht aufgelöst wird. Desshalb trägt man die Ätzbarytlösung langsam ein und betrachtet in jenem Zeitpunkte die Fällung als beendet, in welchem das Filtrat nach weiterem Zusatze des Fällungsmittels eine noch äusserst schwache Phosphorsäurereaction aufweist. Der entstandene Niederschlag besteht vorwiegend aus phosphorsaurem und Spuren von schwefelsaurem Baryt. Das Filtrat,

welches nun stark alkalisch reagirt, wird mit verdünnter Salpetersäure genau neutralisirt, und hierauf mit einer concentrirten Lösung von Silbernitrat so lange versetzt, bis durch weiteren Zusatz desselben die Bildung eines Niederschlages nicht mehr erfolgt. Die Ausscheidung besitzt anfänglich eine gelbbraune Farbe, ist sehr voluminös und verändert beim längeren Stehen, namentlich am Lichte, ihre Farbe. Man filtrirt desshalb rasch, wäscht mit kaltem Wasser so lange, bis die Hauptmenge der Lauge entfernt ist und zersetzt den Niederschlag in der Kälte mit Schwefelwasserstoff. Dabei scheidet sich das Schwefelsilber meist so fein ab, dass eine Abtrennung desselben durch Filtration nicht durchführbar ist. Nach beendeter Zersetzung verdrängt man den Schwefelwasserstoff durch anhaltendes Durchleiten eines Luftstromes, bringt dann die Masse in eine Schale und erwärmt, nachdem man vorher kohlen-saures Baryum eingetragen hat.

Dass das Erwärmen erst nach dem Zusatze des Letzteren erfolgen darf, kann nicht genug hervorgehoben werden, da Lösungen von freier Inosinsäure sich in der Hitze, wie dies auch Liebig schon beobachtet hat, ziemlich rasch zersetzen. Nach dem Aufkochen zeigt die Flüssigkeit neutrale Reaction und lässt sich nunmehr in der Regel vom Schwefelsilber und dem Überschuss des Baryumcarbonates filtriren. Die Lösung wird hernach auf dem Wasserbade, bei etwa 80° , auf circa 250 cm^3 eingeengt. Wenn nun die Flüssigkeit einige Zeit gestanden hat, beginnt die Ausscheidung von prächtig glänzenden Blättchen, welche vorwiegend aus inosinsaurem Baryt bestehen. Dieselben werden, sowie eine Vermehrung derselben nicht mehr stattfindet, was nach circa 12 Stunden der Fall ist, von der Mutterlauge durch Absaugen getrennt. Diese besitzen zumeist eine dunkle Farbe und liefern beim weiteren Eindunsten nur höchst unbedeutende Mengen des Salzes. Die abgesaugte Krystallmasse ist zumeist gelblich gefärbt, lässt sich aber sehr leicht in ein reines Präparat verwandeln, wenn man dieselbe in Wasser von 80° löst und mit Thierkohle entfärbt. Nach dem Abfiltriren der Letzteren beginnt bei entsprechender Concentration der Lösung eine reichliche Ausscheidung vierseitiger Blättchen, die Perlmutterglanz besitzen und die sich so rasch

vermehrten, dass nach kurzer Zeit das Ganze zu einem Krystallbrei erstarrt. Nach dem Trocknen der von der Mutterlauge getrennten Krystalle hat die Substanz das Aussehen von polirtem Silber, eine Eigenthümlichkeit, die auch Liebig betont. Mit seinen Angaben stimmen auch Löslichkeitsverhältnisse, sowie die Fähigkeit des Salzes mit Blei, Silber oder Kupfersalzen Niederschläge zu liefern, überein.

Nach diesem Verfahren erhält man aus 1 *kg* Fleischextract 5—7 *g* reines Barytsalz.¹

Behufs Identificirung habe ich eine Analyse dieser krystallwasserhältigen Substanz vorgenommen und habe dabei die überraschende Beobachtung gemacht, dass dieselbe Phosphor enthält und dass dieser nicht etwa eine zufällige Verunreinigung, sondern ein constituirender Bestandtheil der Inosinsäure und ihrer Salze ist.

Der Verbrennung des Baryumsalzes stellt sich insofern eine Schwierigkeit entgegen, als die Asche desselben, das zurückbleibende Baryumpyrophosphat, Kohle so dicht einschliesst, dass eine vollständige Verbrennung des letzteren fast unmöglich ist. Aus diesem Grunde habe ich zur Verbrennung ein etwa 15 *cm* langes Platinschiffchen gewählt, um die Oberfläche der Substanz nach Möglichkeit zu vergrössern.

Die Analysen der bei 100—105° zur Gewichtsconstanz getrockneten Verbindung ergaben:

- I. 0·4106 *g* Substanz gaben 0·3617 *g* Kohlensäure und 0·1008 *g* Wasser.
- II. 0·4651 *g* Substanz gaben 0·4048 *g* Kohlensäure und 0·1093 *g* Wasser.
- III. 0·4092 *g* Substanz gaben 0·3610 *g* Kohlensäure und 0·0975 *g* Wasser.
- IV. 0·2025 *g* Substanz gaben bei 15° und 750 *mm* Druck 21·0 *cm*³ Stickstoff.

¹ Der Fleischextract ist in Bezug auf seinen Inosinsäuregehalt von sehr ungleicher Beschaffenheit und scheint das Alter desselben von wesentlichem Einfluss auf letzteren zu sein. Aus einer alten, dunklen, ziemlich sauren Waare wurde eine bedeutend kleinere Ausbeute erzielt, als aus hellgelben, frischen Sorten.

- V. 0·2858 g Substanz gaben bei 20·1° und 746·5 mm Druck 29·1 cm³ Stickstoff.
 VI. 0·4220 g Substanz gaben 0·1933 g schwefelsauren Baryt.
 VII. 0·2308 g Substanz gaben 0·1065 g schwefelsauren Baryt.
 VIII. 0·3568 g Substanz gaben 0·1648 g schwefelsauren Baryt.
 IX. 0·4651 g Substanz gaben 0·1050 g pyrophosphorsaure Magnesia.
 X. 0·1804 g Substanz gaben 0·0404 g pyrophosphorsaure Magnesia.

Gefunden in 100 Theilen:

	I.	II.	III.
C	24·02	23·73	24·06
H	2·73	2·61	2·65
N	11·97	11·37	—
P	6·31	6·25	—
Ba	26·91	27·11	27·14

Aus diesen Zahlen rechnet sich die Formel $C_{10}H_{13}N_4PBaO_9$. Die aus derselben gerechneten Werthe stehen mit den gefundenen und mit den von Liebig bei der Untersuchung dieses Salzes gewonnenen Zahlen in völliger Übereinstimmung, so zwar, dass an der Identität des von Liebig beschriebenen mit meinem Producte wohl kaum gezweifelt werden kann.

Die folgende Zusammenstellung soll dies zum Ausdrucke bringen.

	Berechnet für $C_{10}H_{13}N_4PBaO_9$	Im Mittel gefunden	
		Liebig	Haiser
C	23·95	24·63	23·93
H	2·59	2·60	2·66
N	11·17	11·37	11·67
P	6·18	—	6·28
Ba	27·34	27·23	27·05

Das lufttrockene Salz enthält, wie die Krystallwasserbestimmungen zeigen, $6\frac{1}{2}$ Moleküle Krystallwasser, welches bei 100—105° entweicht.

- I. 0·3210 g Substanz verloren 0·0615 g Wasser.

II. 0·2210 g Substanz verloren 0·0423 g Wasser.

III. 0·2785 g Substanz verloren 0·0535 g Wasser.

In 100 Theilen:

	I.	II.	III.	Berechnet für $C_{10}H_{13}N_4P BaO_9 + 6\frac{1}{2}H_2O$
H ₂ O	19·17	19·14	19·23	18·93

Liebig hat für sein Baryumsalz den Gehalt an Krystallwasser zu 19·07 gefunden, welche Angabe mit meinen Resultaten in völliger Übereinstimmung steht.

Das bei 100° C. zur Gewichtskonstanz gebrachte Baryumsalz enthält noch ein Molekül Wasser, welches jedoch durch längeres oder höheres Erhitzen nicht bestimmt werden kann, da das Salz wenig über 100° C. sich zu zersetzen beginnt. Beim Erhitzen auf 120° C. findet fortwährende Gewichtsabnahme statt, zwischen 140 und 150° färbt sich das Salz bereits gelb und wird zwischen 170 und 180° endlich dunkelbraun.

Trocknet man aber das bei 100° zur Gewichtskonstanz gebrachte Baryumsalz bei derselben Temperatur im Vacuum, dann entweicht auch das letzte Molekül Wasser und es hinterbleibt eine weisse, begierig Wasser anziehende Masse. Dieses Umstandes wegen habe ich die mitgetheilten Analysen mit den nicht hygroskopischen, 1 Molekül Wasser haltenden Salzen vorgenommen.

Die bei 100° C. im Vacuum durchgeführten Trocknungen ergaben:

I. 0·3150 g inosinsaures Baryum (welche bei 100° C. zur Gewichtskonstanz gebracht war), verloren im Vacuum bei 100° C. 0·0120 g Wasser.

II. 0·2915 g inosinsaures Baryum (welche bei 100° C. zur Gewichtskonstanz gebracht war), verloren im Vacuum bei 100° C. 0·0105 g Wasser.

In 100 Theilen:

	I.	II.	$C_{10}H_{11}BaN_4PO_8 + H_2O$
H ₂ O	3·66	3·60	3·59

Eine Barytbestimmung, die ich mit einer derartig getrockneten Probe durchgeführt habe, ergab einen mit der Formel $C_{10}H_{11}BaN_4PO_8$ übereinstimmenden Werth.

0·2355 g Substanz gaben 0·1116 g Baryumsulfat.

In 100 Theilen:

	Berechnet
Ba	28·24

Aus diesen Resultaten ergibt sich, dass das lufttrockene inosinsaure Baryum $7\frac{1}{2}$ Moleküle Wasser enthält, das wasserfreie Salz die Formel $C_{10}H_{11}BaN_4PO_8$ besitzt, und dem zu Folge muss der freien Inosinsäure die Zusammensetzung $C_{10}H_{13}N_4PO_8$ zugesprochen werden.

Dass der Phosphor ein constituirender Bestandtheil ist und hier nicht etwa ein Doppelsalz vorliegt, geht daraus hervor, dass die Lösung des inosinsauren Baryts auf Zusatz von Eisenchlorid, Urannitrat oder Magnesiamixtur keine Fällung erzeugt. Wenn eine solche, wie dies bei Verwendung von Uran der Fall ist, anfänglich eintritt, so löst sich dieselbe mit Leichtigkeit im Überschuss des Fällungsmittels auf. Besonders charakteristisch ist das Verhalten gegen molybdänsaures Ammon. Versetzt man eine kalte wässrige Lösung des Baryumsalzes mit Salpetersäure und molybdänsaurem Ammon, so erfolgt weder gleich, noch nach sehr langem Stehen eine Phosphorsäurereaction. Wird aber die Lösung des inosinsauren Baryts vorher mit Salpetersäure gekocht und dann Molybdänsolution zugegeben, so tritt sofort eine reichliche Abscheidung des bekannten gelben Niederschlages ein. Durch das Kochen mit Salpetersäure tritt also erst Zersetzung und Bildung von freier Phosphorsäure ein.

Der Unterschied in der Formel, welche Liebig für die Zusammensetzung des bei 100° C. getrockneten inosinsauren Baryums aufgestellt hat, und meiner Formel besteht darin, dass letztere an Stelle von zwei Sauerstoffatomen ein Atom Phosphor enthält. Dadurch ist eine Differenz im Moleculargewicht um zwei Einheiten bedingt, und deshalb können nur geringfügige Unterschiede in Bezug auf die Werthe der einzelnen Bestandtheile eintreten.

Es erscheint demnach begreiflich, dass die von Liebig gerechneten und ermittelten Zahlen mit den von mir gefundenen und gerechneten völlig übereinstimmen.

Dass Liebig den Phosphorgehalt in der Inosinsäure übersehen hat, ist umso auffallender, als er auf Seite 321 seiner Abhandlung bemerkt: »Bei seiner Lösung in heissem Wasser bietet er eine ähnliche Erscheinung dar, wie der phosphorweinsäure Baryt; wenn eine bei etwa 70° gesättigte wässrige Lösung zum Sieden erhitzt wird, so schlägt sich ein Theil des Salzes in Gestalt einer harzähnlichen Masse nieder, etc. etc.« Es erscheint aber erklärlich, da Liebig die inosinsauren Salze mit Bleichromat gemischt der Verbrennung unterworfen und daher die Verbrennungsrückstände nicht untersucht hat.

Obzwar durch die Gleichartigkeit der Eigenschaften meines Präparates mit jenem Liebig's die Identität der beiden Substanzen im Vorherein wahrscheinlich war, so musste ich mir doch Überzeugung verschaffen, ob die aus anderen Materialien nach seiner Methode dargestellte Inosinsäure phosphorhäftig ist. Zu diesem Zwecke habe ich grössere Mengen von Enten-, Gänse- und Kaninchenfleisch mit Wasser extrahirt und nach Abscheidung des Kreatin etc. die Inosinsäure als Baryumsalz hergestellt.

Diese Präparate zeigten alle Eigenschaften des früher beschriebenen Körpers, waren phosphorhäftig und gaben bei der Analyse Zahlen, die mit denen aus meiner Formel gerechneten übereinstimmen, so zwar, dass ein Zweifel an der Identität ausgeschlossen erscheint. Beispielsweise lieferte eine aus Entenfleisch gewonnene Probe im Gewichte von 0·3840, welche zur Gewichtsconstanz getrocknet war, 0·1867 pyrophosphorsauren Baryt, welcher nach Abscheidung des Baryum 0·0788 pyrophosphorsaure Magnesia ergab. Das entspricht.

In 100 Theilen:

	<u>Gefunden</u>	<u>Berechnet</u>
P	5·73	6·18

Basisches Baryumsalz.

Wie schon früher bemerkt, liefert die Inosinsäure eine fast unlösliche Baryumverbindung, wenn Baryumhydroxyd auf

inosinsaure Salze einwirkt. Versetzt man eine siedendheisse Lösung inosinsauren Baryts oder des Ammonsalzes mit einer heissen, frisch filtrirten Ätzbarytlösung, so fällt aus der Lösung eine voluminöse, weisse, mikrokrystallinische Masse aus, die selbst von grossen Mengen siedenden Wassers nicht gelöst wird.

Man kann das Salz durch rasches Filtriren und Waschen mit heissem Wasser leicht rein erhalten. Dieses Baryumsalz besitzt nach dem Trocknen ein kreidiges, glanzloses Aussehen.

Die Analyse der bei 110° zur Gewichtsconstanz getrockneten Verbindung ergab Zahlen, die mit den aus der Formel $C_{10}H_{12}ba_3N_4PO_9$ gerechneten nahezu übereinstimmen.

- I. 0·4295 g Substanz gaben 0·2768 g schwefelsauren Baryt.
- II. 0·4295 g Substanz gaben 0·0793 g pyrophosphorsaure Magnesia.
- III. 0·2715 g Substanz gaben 0·1735 g schwefelsauren Baryt.
- IV. 0·2715 g Substanz gaben 0·0492 g pyrophosphorsaure Magnesia.

In 100 Theilen:

	I.	II.	Berechnet für $C_{10}H_9ba_3N_4PO_8 + H_2O$
Ba	37·87	37·54	36·34
P	5·06	5·14	5·48

Calciumsalz.

Zur weiteren Charakterisirung der Inosinsäure habe ich noch das Calciumsalz dargestellt. Dasselbe bildet farblose, durchsichtige, anscheinend monokline Krystalltafeln, die in kaltem Wasser schwer, leicht aber in heissem löslich sind. Infolge dieser Löslichkeitsverhältnisse krystallisirt die Verbindung nach kurzer Zeit aus, wenn man zu einer concentrirten Lösung des inosinsauren Ammons eine gesättigte Chlorcalciumlösung hinzugibt. Durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser lässt es sich leicht rein erhalten. Das Salz enthält Krystallwasser, welches bei $100\text{--}105^{\circ}$ bis auf ein Molekül entweicht.

Die Analyse der bei $100\text{--}105^{\circ}$ getrockneten Substanz ergab:

0·3252 g Substanz gaben 0·0433 g Calciumoxyd.

0·3252 g Substanz gaben 0·0900 g pyrophosphorsaure Magnesia.

In 100 Theilen:

	Gefunden	Berechnet für $C_{10}H_{11}N_4CaPO_8+H_2O$
Ca	9·51	9·90
P	7·73	7·67

Die Wasserbestimmungen, welche bei 105° vorgenommen wurden, ergaben:

I. 0·3936 g Substanz verloren 0·0750 g Wasser.

II. 0·4002 g Substanz verloren 0·0750 g Wasser.

In 100 Theilen:

I.	II.	$C_{10}H_{11}CaN_4PO_8+6\frac{1}{2}H_2O$
19·33	18·74	19·68

Andere Salze der Inosinsäure habe ich nicht mehr untersucht, da dieselben wenig einladende Eigenschaften besitzen. Das Kali- und Ammonsalz sind äusserst hygroskopische Körper. Letzteres habe ich durch Fällen des inosinsauren Baryum mit kohlensaurem Ammon erhalten. Nach dem Eindunsten stellt es eine syrupöse Masse dar, die trotz langem Stehen nicht zur Krystallisation gebracht werden konnte. Erst nach einigen Monaten erstarrte der Syrup krystallinisch.

Die Inosinsäure, welche aus der Silber- Kupfer- oder Blei- Verbindung mit Hilfe von Schwefelwasserstoff in Freiheit gesetzt wurde, ist den Angaben Liebig's entsprechend nicht in krystallisirten Zustand überzuführen gewesen.

Um über die Constitution der Inosinsäure Anhaltspunkte zu gewinnen, habe ich getrachtet charakterisirte Zersetzungs- producte zu gewinnen.

Zerfall der Inosinsäure durch Wasser.

Beim längeren Erhitzen einer wässerigen Lösung der Inosinsäure (die dadurch hergestellt wurde, dass 10 g wasser- freies Baryumsalz in circa 700 cm^3 Wasser gelöst und mit der berechneten Menge Schwefelsäure zerlegt worden waren) tritt

eine sichtbare Veränderung in Bezug auf Farbe nicht ein, auch ist die Entwicklung von gasigen Zersetzungsproducten nicht zu beobachten. Wenn man aber nach etwa dreistündigem Kochen eine kleine Quantität der Lösung abdunstet, so findet die Abscheidung einer schwer löslichen, krystallinischen Substanz statt. Falls nun nach weiterem Erhitzen eine Zunahme in Bezug auf die Menge des Ausgeschiedenen nicht wahrnehmbar ist, wird das Ganze mit Wasser verdünnt, mit Baryumcarbonat neutralisirt, und das Filtrat von dem Überschuss des letzteren im Vacuum bei möglichst niedriger Temperatur abdestillirt. Dabei fällt ein weisses, sandiges Krystallpulver aus, welches, sowie das ganze Lösungsmittel abgedunstet ist, in einer dicklichen Lauge eingebettet erscheint. Durch Extraction dieser syrupösen Masse mit grösseren Quantitäten von absolutem Alkohol gelingt es leicht, die krystallinische, baryumfreie Ausscheidung (α) von der in Alkohol unlöslichen baryumhaltigen Verbindung (β) zu trennen.

Die alkoholische Lösung hinterlässt nach dem Abdestilliren des Alkohols einen Rückstand, der aus Wasser umkrystallisirt, mit Thierkohle entfärbt, farblose, schwach glänzende Krystalle abscheidet, die sich als Sarkin erwiesen.

Dass dieses Zersetzungsproduct der Inosinsäure, welches nahezu in theoretischer Ausbeute erhalten wird, wirklich Sarkin ist, geht daraus hervor, dass dasselbe alle Eigenschaften und Reactionsweisen, die von Strecker¹ und Weidel² angegeben sind, zeigt. So ist die wässrige Lösung durch Bleiessig fällbar, der Niederschlag wird durch Bleizucker gelöst. Silbernitrat erzeugt eine weisse, pulverige Fällung. Auch gibt eine Probe der salpetersauren Lösung beim Erhitzen mit Chlorwasser und dem nachherigen Abdunsten einen Rückstand, der sich in ammoniakhaltiger Luft rosenroth färbt.

Unzweifelhaft bestätigt die Identität dieser Substanz mit Sarkin die Analyse, die ich mit dem bei 110° getrockneten Körper ausgeführt habe.

0·2825 g Substanz gaben 0·4559 g Kohlensäure und 0·0785 g Wasser.

¹ Ann. der Chemie und Pharmacie; 102, 204.

² Ann. der Chemie und Pharmacie; 158, 365.

0·1722 g Substanz gaben bei 20° und 745·4 mm Druck 63·1 cm³ Stickstoff.

In 100 Theilen:

	Gefunden	Berechnet für C ₅ H ₄ N ₄ O
C	41·01	44·11
H	3·08	2·94
N	41·09	41·17

Dass Sarkin hier wirklich vorliegt, geht auch daraus hervor, dass die Salzsäureverbindung, in welche ich einen Theil des Präparates übergeführt habe, ein Product bildete, welches alle von Strecker¹ beschriebenen Eigenschaften des salzsauren Sarkins besass. Dasselbe bildet farblose Nadeln und enthält 1 Molekül Krystallwasser.

Die Analyse der lufttrockenen Substanz ergab folgende mit der Formel C₅H₄N₄O + HCl + H₂O übereinstimmende Resultate:

0·3075 g Substanz gaben 0·3550 g Kohlensäure und 0·1035 g Wasser.

0·3630 g Substanz gaben 0·2680 g Chlorsilber.

In 100 Theilen:

	Gefunden	Berechnet für C ₅ H ₄ N ₄ O + HCl + H ₂ O
C	31·48	31·49
H	3·74	3·67
Cl	18·27	18·63

So leicht die Natur des einen Spaltungsproductes zu bestimmen war, so schwierig gestaltete sich die Untersuchung des mit β bezeichneten Theiles. Derselbe stellt nach dem Entfernen des Sarkins mit Alkohol eine gelbgraue, nicht krystallinische Masse dar, die sich nur mehr zum Theile in Wasser löste. Das Unlösliche habe ich von der gelbbraun gefärbten Flüssigkeit

¹ Ann. der Chemie und Pharmacie; 102, 204.

durch Filtration getrennt. Nach dem Auswaschen desselben wurde ein fast weisses Product erhalten, welches, von organischen Substanzen völlig freier, phosphorsaurer Baryt war. Dieses Phosphat kann nur während der Aufarbeitung der mit Baryumcarbonat behandelten Zersetzungsproducte entstanden sein. Das Filtrat schied während des Abdampfens noch geringe Quantitäten Baryumphosphat ab.

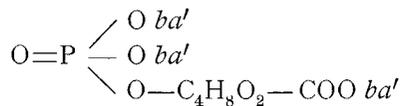
Da in der Lösung eine gewisse Menge von Phosphor offenbar in Form einer gepaarten Phosphorsäure vorhanden war, so habe ich die Flüssigkeit nunmehr entfärbt und konnte hierauf durch systematisches, fractionirtes Fälln mit Alkohol zwei verschiedene Barytsalze abscheiden.

Das in Alkohol unlösliche, also erst ausfallende Product, war von gelblich weisser Farbe und enthielt sowohl Baryum als Phosphor. Das zweite in verdünntem Alkohol lösliche Baryumsalz war phosphorfrei.

Leider konnte keine der beiden Verbindungen in krystallisirter Form erhalten werden und deshalb sind auch die Bestimmungen, die ich mit denselben vorgenommen habe, nicht sehr vertrauenerweckend. Immerhin lassen die gewonnenen Resultate den Schluss zu, dass das bei der Spaltung der Inosinsäure entstehende amorphe Zersetzungsproduct sich von einer Trioxyvaleriansäure ableiten dürfte.

Das in Alkohol lösliche, phosphorfreie, zur Gewichtsconstanz getrocknete Product ergab einen Baryumgehalt von 30·93%, während ein trioxyvaleriansaures Baryum ($C_5H_9ba'O_5$) 31·42% Baryum verlangen würde.

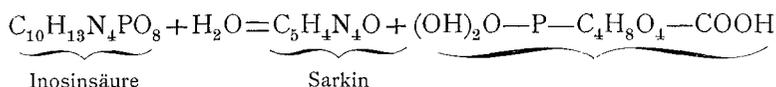
Die durch Alkohol fällbare, phosphorhaltige Verbindung hinterliess einen Glührückstand von 69·09% phosphorsaurer Baryt. Demnach könnte diese Substanz das Baryumsalz einer Trioxyvalerian-Phosphorsäure darstellen, deren Zusammensetzung durch die Formel



ausdrückbar wäre. Dasselbe würde nach dem Abglühen 69·48% Baryumphosphat fordern. Obzwar, wie schon bemerkt, diesen

Resultaten keine besondere Beweiskraft zuzuschreiben ist, so sind sie doch hinweisend für den Zusammenhang mit den Isomeren der Trioxyvaleriansäure, umsomehr, als die beiden Salze beim Verbrennen Caramelgeruch verbreiten und der trockenen Destillation unterworfen ein Destillat erzeugen, welches deutliche Furfurolreaction gibt. Beide Salze reduciren Fehling'sche Lösung.

Unter der Annahme, dass bei der Hydrolyse der Inosinsäure 1 Molekül Wasser aufgenommen würde, könnte der Zerfall im Sinne der Gleichung



vor sich gehen. Die dieser Gleichung entsprechenden Ausbeuten an Sarkin wurden auch thatsächlich erhalten.

Da es nicht unmöglich schien, dass die eben besprochenen Baryumsalze in Folge eines Oxydationsprocesses sich während des Abdunstens zersetzen und braun färben, so habe ich versucht, die Inosinsäure durch

Einwirkung von Zinn und Salzsäure

zu spalten, habe mich jedoch vorher überzeugt, dass Sarkin durch diese Agentien nicht verändert wird.

Bei dieser Reaction wird Sarkin in quantitativer Ausbeute gewonnen, und gleichzeitig der Vortheil erreicht, dass die gesammte Menge der Phosphorsäure austritt.

Die Producte, die bei dieser Einwirkung entstehen, wurden in folgender Weise getrennt und dargestellt. Zunächst wurde inosinsaurer Baryt mit Silbernitrat gefällt, das Silbersalz nach dem Auswaschen mit Salzsäure bei mässiger Temperatur zersetzt, und das Filtrat vom Chlorsilber hierauf mit grösseren Mengen Zinn durch etwa 3 Stunden gekocht. Dabei tritt anfänglich Gelbfärbung der Flüssigkeit ein, die nach weiterem Erhitzen wieder verschwindet. Nach Verlauf der angegebenen Zeit wurde die Lösung zur Verjagung der Salzsäure am Wasserbade bis zur Syrupconsistenz eingedunstet. Als nun der Rückstand mit Wasser behandelt wurde, schied sich eine

weisse, pulverige Masse aus, die ich sehr bald als phosphorsaures Zinnoxidul erkannte, und welche völlig frei von organischen Substanzen war. Das Filtrat von dieser Ausscheidung lieferte mit Schwefelwasserstoff zerlegt eine Lösung, welche nach dem Einkochen im Vacuum die Zersetzungsproducte hinterliess. Alkohol löst den Rückstand mit Leichtigkeit auf, und es kann durch fractionirte Krystallisation aus diesem Lösungsmittel das salzsaure Sarkin von dem äusserst zerfliesslichen, gelbbraun gefärbten stickstofffreien, zweiten Zersetzungsproducte getrennt werden. Dasselbe ist phosphorfrei und ist aller Wahrscheinlichkeit nach identisch mit dem aus dem Spaltungsproduct der Inosinsäure mittelst Wassers erhaltenen phosphorfreien Zersetzungsproducte. Leider konnte dasselbe auch nicht in eine geeignete Form gebracht werden, so dass ich auf eine Weiterführung der Untersuchung einstweilen verzichten musste.

Aus den mitgetheilten Resultaten jetzt schon einen Schluss auf die Constitution der Inosinsäure zu ziehen, wäre verfrüht, zumal weder über die Constitution des Sarkin Sicheres ermittelt ist, noch die Natur des zweiten Zersetzungsproductes festgestellt werden konnte. Jedenfalls ist die Inosinsäure eine Substanz, die als ein Derivat einer gepaarten Phosphorsäure zu betrachten ist. Solche gepaarte Phosphorsäuren kommen im thierischen Organismus, wie bekannt, sehr häufig vor und hat erst in jüngster Zeit Siegfried¹ über eine als Fleischsäure $C_{10}H_{15}N_3O_5$ bezeichnete Substanz Mittheilung gemacht, die ebenfalls mit Phosphorsäure gepaart im Muskelsafte enthalten ist, und die er auch aus dem Fleischextracte gewinnen konnte.

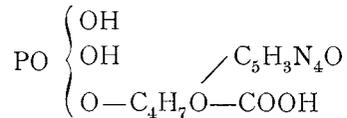
Denkt man sich in der Inosinsäure die Phosphorsäure unter Aufnahme eines Moleküles Wasser ausgetreten, so könnte eine Verbindung von der Zusammensetzung $C_{10}H_{12}N_4O_5$ resultiren, und es wäre nicht unmöglich, dass die Inosinsäure und Fleischsäure ($C_{10}H_{15}N_3O_5$) in ziemlich naher Beziehung zu einander stehen. Eine spätere Untersuchung müsste den Zusammenhang feststellen. Ich werde, sowie ich grössere Quantitäten von Inosinsäure gesammelt habe, die Constitution

¹ Berl. Ber., 27, 2762.

des zweiten Zersetzungsproductes und auch die des Sarkins aufzuklären versuchen.

Berücksichtigt man, dass die Inosinsäure drei, durch Baryum vertretbare Wasserstoffatome enthält, so liegt die Vermuthung nahe, dass der Sarkinrest in der Inosinsäure nicht direct an die Phosphorsäure angelagert ist, sondern dass derselbe an die mit Phosphorsäure gepaarte Trioxyvaleriansäure angegliedert ist.

Die folgende mit aller Reserve mitgetheilte Formel möge diese Verhältnisse zum Ausdrucke bringen.



Endlich erlaube ich mir noch meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Hugo Weidel, welcher mich bei der Ausführung dieser Arbeit in liebenswürdiger Weise unterstützte, meinen herzlichen Dank zu sagen.
