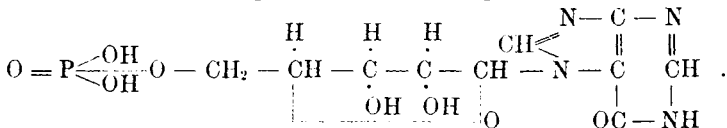


361. P. A. Levene und W. A. Jacobs: Über die Hefe-Nucleinsäure.

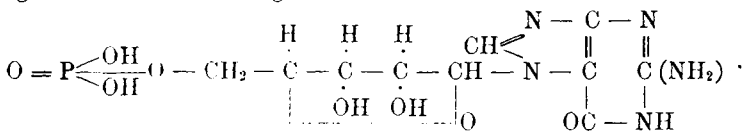
[Aus dem Rockefeller Institute for Medical Research, New York.]

(Eingegangen am 26. Mai 1909).

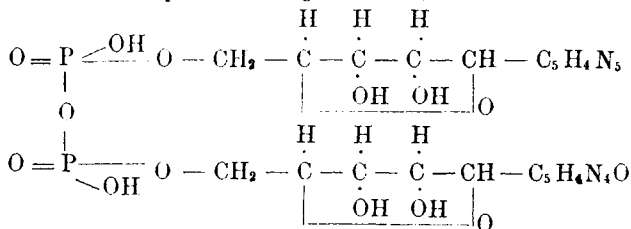
Wie bekannt, sind die komplizierteren Nucleinsäuren aus Purinbasen, Pyrimidinbasen, Kohlehydraten und Phosphorsäuren zusammengesetzt. Die einfacheren — Inosinsäure und Guanylsäure — bestehen nur aus je einer Purinbase, einer Kohlehydratgruppe und Phosphorsäure. Über die genauere Konstitution der Substanzen lagen bis vor kurzem keine experimentell sicher begründeten Ansichten vor. Die Auffassung von Schmiedeberg¹⁾, nach welcher als Grundsubstanz der Nucleinsäure das Nucleotin anzusehen war, stützte sich hauptsächlich auf spekulative Gründe. Vor einem Jahre haben nun Levene und Mandel²⁾ den Gedanken ausgesprochen, daß die komplizierteren Nucleinsäuren aus mehreren Fragmenten aufgebaut seien, welche die Zusammensetzung der einfachen Nucleinsäuren, der Inosinsäure und der Guanylsäure, besitzen. Über die Inosinsäure waren dann in diesem Laboratorium Untersuchungen im Gange; nach diesen dürfte ihre Konstitution etwa folgendem Schema entsprechen:



Aus denselben Gründen mußte die Guanylsäure dann die folgende Zusammensetzung haben:



Komplexe dieser Ordnung haben Levene und Mandel Mononucleotide genannt; die komplizierteren Nucleinsäuren sollten dann aus mehreren solchen Komponenten aufgebaut sein, etwa nach dem Schema:



¹⁾ Arch. f. Exp. Path. u. Pharmakol. **43**, 65 [1899]; Alsberg, *ibid.* **51**, 240 [1904].

²⁾ Diese Berichte **41**, 1905 [1908].

Seitdem hat sich diese Ansicht über die Konstitution der Inosinsäure durch die Arbeiten von Levene und Jacobs¹⁾, sowie von Haiser und Wenzel²⁾ experimentell begründen lassen. Ganz vor kurzem³⁾ ist es uns nun gelungen, auch für die Guanylsäure eine analoge Zusammensetzung zu beweisen. Unaufgeklärt war nur die Stellung derjenigen Hydroxylgruppe geblieben, durch welche Zucker und Phosphorsäure gebunden sind. Die Bindung der Purinbasen würde man wahrscheinlich mit Burian in der Stellung 7 annehmen müssen.

Vor einiger Zeit hat Levene⁴⁾ Beweise für die Annahme beigebracht, daß auch die Hefe-Nucleinsäure eine Zusammensetzung nach demselben Schema wie die Thymonucleinsäure besitzt. Er stützte sich hierbei darauf, daß man bei partieller Hydrolyse mittels verdünnter Mineralsäuren zu Komplexen gelangt, die scheinbar aus Pyrimidinbasen, einer Pentose und Phosphorsäure zusammengesetzt wird, während man durch alkalische Hydrolyse glykosidartige Körper erhält. Zu jener Zeit war die Isolierung dieser Körper in rein kristallinischer Form noch nicht gelungen; jetzt aber, wo es ermöglicht worden ist, solche Körper zu gewinnen und genauer zu untersuchen, schlagen wir für sie die allgemeine Benennung »Nucleoside« vor. Zwei solcher Nucleoside sind schon jetzt bekannt geworden: Das Inosin, welches Haiser und Wenzel im Carnin entdeckten, und welches wir als Komponente der Inosinsäure erkannten, und das von uns entdeckte Guanosin⁵⁾, das eine Komponente der Guanylsäure darstellt.

Nun ist es uns jetzt gelungen, das Guanosin auch bei der Hydrolyse der Hefe-Nucleinsäure zu erhalten. Um diese Substanz in guter Ausbeute zu gewinnen, braucht man nämlich die Spaltung nur bei möglichst neutraler Reaktion der Lösung auszuführen. Dieser Befund enthält also den Beweis, daß die Hefe-Nucleinsäure aus mehreren Nucleotiden besteht, welche nach dem Typus der Guanylsäure zusammengesetzt sind.

Bei der Spaltung der Hefe-Nucleinsäure erhielten wir in der Mutterlauge vom Guanosin noch mehrere ähnliche Körper in amorpher Form. Diese Körper sind phosphorfrei und liefern bei der Hydrolyse mittels verdünnter Mineralsäuren die Pentose und Basen. Mit ihrer Bearbeitung sind wir jetzt beschäftigt.

Dieser Befund ermöglichte es uns auch, Auskunft über die Natur der in der Hefe-Nucleinsäure vorkommenden Pentose zu ge-

¹⁾ Diese Berichte **41**, 2703 [1908]; **42**, 335 [1909].

²⁾ Monatsh. f. Chemie **29**, 157 [1908]; *ibid.* **30**, 147 (1909).

³⁾ Vergl. die voranstehende Mitteilung.

⁴⁾ Biochem. Zeitschr. **17**, 120 [1909].

⁵⁾ Vergl. die voranstehende Mitteilung.

winnen. Auf Grund der Untersuchungen von Neuberg¹⁾ und seiner Mitarbeiter hat man die in der Nucleinsäure vorkommende Pentose als *l*-Xylose aufgefaßt. Es war zum ersten Male bei der Untersuchung der Inosinsäure, daß wir auf Widersprüche zwischen den Angaben von Neuberg und unseren Befunden über das Drehungsvermögen des Phenylsosaazons stießen; später ist es uns dann gelungen, die Unhaltbarkeit der Neubergschen Ansicht über die Natur der Pentose aus der Inosinsäure und der Guanylsäure definitiv zu beweisen. Es gelang uns nunmehr, diese Pentose in krystallinischer Form zu erhalten. Provisorisch hatten wir sie Carnose genannt, jetzt aber finden wir uns berechtigt, sie als *d*-Ribose anzusprechen. Ferner ist es uns nunmehr gelungen, dieselbe Pentose auch aus dem Guanosin der Hefe-Nucleinsäure zu erhalten. Auch bei der direkten Spaltung der Hefe-Nucleinsäure mittels verdünnter Mineralsäuren bildet sich die gleiche linksdrehende Pentose; ihre Isolierung ist aber hier mit vielen Mühen und Verlusten verbunden, so daß wir aus 30 g der Nucleinsäure nur etwa 0.35 g des reinen, in diesem Fall jedoch nicht krystallinischen Zuckers erhielten. Wie in früheren Mitteilungen erwähnt ist, begegnete man auch bei der Hydrolyse der Inosinsäure und der Guanylsäure ähnlichen Schwierigkeiten.

Wir sind jetzt mit der Darstellung der Nucleoside aus der Thymonucleinsäure beschäftigt, und hoffen, durch diese Untersuchung die Natur der dort vorkommenden Hexose aufzuklären.

Experimenteller Teil.

Darstellung der Hefe-Nucleinsäure. Die für diese Arbeit gebrauchte Nucleinsäure wurde von Boehringer, Mannheim, bezogen. Die Substanz war nicht eiweißfrei; zu ihrer Reinigung wurde sie in möglichst wenig heißem Wasser gelöst und mit viel Eisessig gefällt. Die auf diese Weise erhaltene Substanz war ganz biuretfrei.

Neutrale Hydrolyse der Hefe-Nucleinsäure.

20 g der reinen Hefe-Nucleinsäure wurden in 80 ccm 10-proz. Natronlauge unter Erwärmen aufgelöst. Die schwach gelb gefärbte Lösung wurde dann mit Essigsäure versetzt, bis sie auf Lackmuspapier amphotere Reaktion zeigte. Die Reaktion darf weder schwach sauer, noch alkalisch sein, da im ersten Falle beim Erhitzen vollständige Hydrolyse eintreten würde, gegen Alkali die Substanz aber sehr resistent ist. Die neutrale Lösung wird dann auf 500 ccm verdünnt und im Einschließerohr 6 Stunden auf 130—140° erhitzt. Nach dem Er-

¹⁾ Diese Berichte **32**, 3384 [1899].

kalten wurde die klare Lösung mit der dreifachen Menge Wasser verdünnt und im Wasserbade erhitzt. Die Lösung wurde dann mit Bleiessig versetzt, bis die Fällung gerade beendet war, der Niederschlag abgesaugt und mit Wasser nachgewaschen. Das Filtrat wurde mit Bleiessig und Ammoniak vollständig gefällt. Der Niederschlag wurde nach dem Abfiltrieren und sorgfältigem Auswaschen in 200 ccm Wasser aufgeschwämmt und mittels Schwefelwasserstoff vollständig zersetzt. Die Mischung wurde nach Zusatz von etwas Tierkohle zum Sieden erhitzt und rasch filtriert. Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck auf 50 ccm eingeeengt, wobei es rasch zu einer gelatinösen Masse erstarrte, die im Eisschrank bald kristallisierte. Die Krystalle, die genau das Aussehen des Guanosins besaßen, wurden abfiltriert, sorgfältig gewaschen und aus möglichst wenig heißem Wasser umkrystallisiert. Das Produkt gab starke Pentosen-Reaktion, zeigte keinen gebundenen Phosphor und besaß nach der Hydrolyse reduzierende Eigenschaften. Im Capillarrohr rasch erhitzt, sinterte es bei 237° (korr.).

0.1508 g Sbst. im Vakuum über P_2O_5 getrocknet: 0.0169 g H_2O .

$C_{10}H_{13}O_5N_5 + 2H_2O$. Ber. H_2O 11.28. Gef. H_2O 11.21.

0.1339 g wasserfreie Sbst.: 0.2061 g CO_2 , 0.0597 g H_2O .

$C_{10}H_{13}O_5N_5$. Ber. C 42.40, H 4.59.

Gef. » 41.97, » 4.95.

0.1277 g Sbst. in 4 ccm (1 Mol.) $\frac{1}{10}$ -n. NaOH gelöst; Gesamtgewicht der Lösung 4.2243 g. Drehte im 0.5-dm-Rohr mit Natriumlicht 0.90° nach links. Mithin

$$[\alpha]_D = -59.54^\circ (\pm 0.6^\circ).$$

Für Guanosin aus Guanylsäure war die Drehung $[\alpha]_D = -60.52^\circ (\pm 0.6^\circ)$.

Es ist also kein Zweifel mehr möglich, daß das Guanosin aus der Hefe-Nucleinsäure und das Guanosin aus der Guanylsäure identisch sind.

Durch die Hydrolyse ist dies dann noch weiter bewiesen worden. Die Mutterlauge vom Guanosin gab sehr starke Pentosen-Reaktion, zeigte aber keine reduzierenden Eigenschaften und war frei von gebundenem Phosphor. Sie enthielt aber ohne Zweifel noch andere Nucleoside, wie Adenosin und so weiter, die von Alkohol amorph gefällt wurden. Mit der Isolierung dieser Körper sind wir jetzt beschäftigt.

Hydrolyse des Guanosins.

1.3 g Guanosin wurden genau nach der für das Guanylsäure-Guanosin angegebenen Methode hydrolysiert. In derselben Weise wurde der Zucker, die *d*-Ribose, in rein krystallinischer Form er-

halten. Zwecks Identifizierung wurde das Drehungsvermögen bestimmt.

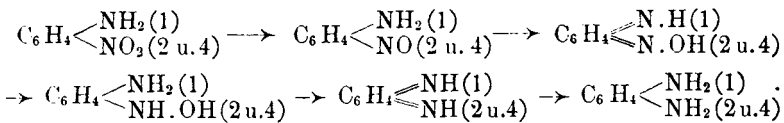
0.1118 g Subst. in 3.5 ccm Wasser gelöst; Gesamtgewicht der Lösung 3.6833 g. Drehte im 0.5-dm-Rohr mit Natriumlicht -0.295° nach links. Mithin $[\alpha]_D = -19.44^\circ$.

Der Purinbasen-Niederschlag, der mittels Silbersulfat erhalten worden war, wurde in verdünnter Schwefelsäure aufgeschwämmt und mittels Schwefelwasserstoff zersetzt. Nach dem Abfiltrieren schieden sich beim Erkalten des Filtrats schöne, lange Nadeln aus, die in allen Eigenschaften mit dem Guanin-Sulfat vollständig übereinstimmten.

362. K. Brand und Ed. Stohr: Die elektrochemische Reduktion des *p*-Nitroacetanilids.

(Eingegangen am 16. Juni 1909.)

Nach den Untersuchungen von Elbs und seinen Schülern liefern *o*- und *p*-Nitroanilin entgegen dem Haberschen Schema bei der katholischen Reduktion auch in alkalischer Lösung die entsprechenden Phenylendiamine und keine Azoxy- oder Azoverbindungen. Elbs¹⁾ führt das anomale Verhalten der genannten Verbindungen darauf zurück, daß die Reduktionszwischenprodukte (*o*- bzw. *p*-Nitroso- und Hydroxylaminoaniline) gemäß folgender Gleichung in Chinoderivate umgelagert werden:



Diese Chinonverbindungen sind zur Azoxykondensation nicht befähigt, sondern werden infolge ihres hohen Depolarisationsvermögens sofort weiter reduziert. Hiermit stimmt überein, daß nach Bamberger²⁾ *o*- und *p*-Nitroanilin nicht die entsprechenden Hydroxylaminverbindungen, sondern ebenfalls Diamine liefern, wenn man sie in neutraler Lösung mit Zinkstaub reduziert. Acetyliert man dagegen die genannten Nitroamine, hindert man also die Umlagerung der Reduktionszwischenprodukte in Chinoderivate, so entstehen, wie

¹⁾ Zeitschr. für Elektrochem. 7, 133 f. [1900].

²⁾ Diese Berichte 28, 250 f. [1895].