

Über die Identität des Vernins und des Guanosins, nebst einigen Bemerkungen über Vicin und Convicin.

Von

E. Schulze und G. Trier.

(Aus dem agrikulturchemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)
(Der Redaktion zugegangen am 4. November 1910.)

In einem vor kurzem in dieser Zeitschrift veröffentlichten Beitrag zur Kenntnis des Vernins¹⁾ wurden den in früheren Abhandlungen über das Vernin von E. Schulze und seinen Mitarbeitern gemachten Mitteilungen mehrere neue hinzugefügt und auf einige dem Vernin ähnliche Pentoside hingewiesen. Insbesondere erschien das von Levene und Jacobs²⁾ durch Spaltung von Guanylsäure und Hefenucleinsäure erhaltene Guanosin, $C_{10}H_{13}N_5O_5 + 2 H_2O$, in allen beschriebenen Eigenschaften dem Vernin zu entsprechen. Die Vermutung der Identität der beiden Verbindungen wurde vorläufig in die Worte zusammengefaßt: «Es sind uns zurzeit keine Tatsachen bekannt, die im Widerspruch mit der Annahme stehen, daß Guanosin und Vernin identisch sind.»

Durch die im folgenden mitgeteilten Tatsachen ist nun die Identität der beiden Pentoside mit Sicherheit festgestellt worden.

Es war zunächst die Natur des bei der Spaltung des Vernins entstandenen Zuckers aufzuklären. Daß eine Pentose vorliege, konnte mit einiger Sicherheit angenommen werden, da schon im Jahre 1904 von E. Schulze und N. Castoro³⁾ die Pentosenreaktion am Vernin gefunden wurde, ferner eine mit geringen Substanzmengen ausgeführte Furfurolbestimmung eine

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LXVI, S. 128 [1910]. Siehe dort auch die frühere Literatur.

²⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XLII, S. 2469, 2474, 2703, 3247 [1909].

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLI, S. 455 [1904].

der Annahme ungefähr entsprechende Ausbeute von Furfural lieferte und weil schließlich die Formel des Vernins als $C_{10}H_{13}N_5O_5$ deutlich auf ein Guanin-Pentosid hinwies. Die spezifische Drehung des bei der Spaltung des Vernins mit 1%iger Schwefelsäure erhaltenen Zuckersirups konnte mit $-17,7^\circ$ angegeben werden, doch wurde bemerkt, daß sie wahrscheinlich etwas höher liege. Für die Versuche zur weiteren Charakterisierung des erhaltenen Zuckers, der auch nach mehrwöchentlichem Stehen nicht krystallisierte, standen uns nur 0,533 g des Sirups zur Verfügung.

Es handelte sich also darum, durch Darstellung eines möglichst charakteristischen Derivats die Art der Pentose festzustellen. Hierzu erschien uns am geeignetsten das p-Bromphenylosazon, welches für die Arabinosereihe gleichzeitig von Levene und Jacobs¹⁾ sowie von Rewald²⁾ beschrieben worden ist. Von beiden Seiten waren die Eigenschaften des p-Bromphenylosazons der Arabinose in gleicher oder doch recht ähnlicher Weise angegeben worden; Rewald fand einen Schmelzpunkt von 180° und deutliche Rechtsdrehung, Levene und Jacobs einen Schmelzpunkt von $180-185^\circ$ und Rechtsdrehung. Das p-Bromphenylosazon der Zucker der Xylosereihe schmilzt um etwa 20° höher und ist optisch inaktiv.

Wir stellten uns zunächst Vergleichspräparate dar, indem wir einerseits l-Arabinose, andererseits l-Xylose in die entsprechenden p-Bromphenylosazone überführten. Der Verninzucker gab, nach der von Levene und Jacobs angegebenen Weise behandelt, ein p-Bromphenylosazon, welches mit dem von den oben genannten Autoren beschriebenen p-Bromphenylosazon der Pentosen der Arabinosereihe übereinstimmte und sich beim direkten Vergleich mit dem aus l-Arabinose von uns erhaltenen bis auf die Drehungsrichtung vollständig identisch erwies. Details siehe unten bei der Zusammenstellung der Eigenschaften von Guanosin und Vernin. Die für den Verninzucker ermittelten Eigenschaften mußten also zu der Anschauung führen, daß, wie

¹⁾ Levene und Jacobs, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XLII, S. 3247 [1909].

²⁾ Rewald, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XLII, S. 3134 [1909].

im Guanosin von Levene und Jacobs, auch im Vernin das Guanin an die als d-Ribose erkannte Pentose gebunden ist.

War somit die Identität des Vernins mit dem Guanosin im höchsten Grade wahrscheinlich, so suchten wir doch noch die letzten Zweifel zu beseitigen und gingen daran, Guanosin durch Spaltung von Hefenucleinsäure darzustellen, um es mit dem Vernin direkt vergleichen zu können. Die Gewinnung des Guanosins gelang uns indessen trotz mehrfacher Versuche nicht in der gewünschten Weise. Wir verwendeten käufliches Natrium nucleinicum, welches in kleineren Partien in Einschmelzröhren, unter weitmöglicher Beachtung der von Levene und Jacobs gegebenen beiden Vorschriften¹⁾ hydrolysiert und weiter behandelt wurde. Es wurden stets Präparate erhalten, die etwa die Löslichkeitsverhältnisse des Vernins zeigten, beim Umkrystallisieren aus heißem Wasser aber stets gallertig sich abschieden und durch kein Mittel zu deutlicher Krystallisation zu bringen waren.

Auf unsere Bitte stellte uns sodann Herr Prof. P. A. Levene in New York in freundlichster Weise ein Präparat seines Guanosins zur Verfügung. Dieses Präparat war vollkommen frei von Phosphorsäure, löste sich vollkommen in kochendem Wasser und zeigte nach zwei- bis dreimaligem Umkrystallisieren ganz das gleiche Aussehen, wie es für das Vernin als recht charakteristisch angegeben wurde. Es bildete dünne Nadelchen, die abfiltriert und zwischen Papier gepreßt, als atlasglänzende Masse sich vom Filter ablösen ließen. Das Pikrat entsprach dem aus dem Vernin erhaltenen. Es bildete kugelige Aggregate von feinen Nadelchen, die gleichzeitig mit einem Präparat von Verninpikrat schmolzen.

Wir geben im folgenden eine Übersicht der Eigenschaften von Guanosin und Vernin. Die Angaben über das Guanosin, soweit sie von Levene und Jacobs herrühren, sind durch die Zeichen L. und J. kenntlich gemacht. Alle übrigen Angaben sind von E. Schulze und seinen Mitarbeitern im Laufe ihrer Untersuchungen über das Vernin ermittelt worden:

¹⁾ Levene und Jacobs, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XLII, S. 2477 und 2704 [1909].

	Vernin	Guanosin	Bemerkungen
Formel	$C_{10}H_{13}O_6N_5 + 2H_2O$.	$C_{10}H_{13}O_6N_5 + 2H_2O$ (L. u. J.).	
Krystallgestalt	Krystallisiert in dünnen Nadeln oder flachen Prismen; die abgepreßten Krystalle bilden eine atlasglänzende Masse.	Kann in gleicher Form erhalten werden. L. u. J.: Krystallisiert in langen dünnen, seidenartigen Nadeln vom Aussehen des Tyrosins.	
Löslichkeit	In kaltem Wasser wenig löslich, leicht in heißem. Unlöslich in Alkohol. Löslich in Alkalien und verdünnten Mineralsäuren. Wird aus der alkalischen Lösung durch Essigsäure als Gallerte gefällt, krystallisiert aber bald in bekannter Weise.	L. u. J.: In kaltem Wasser kaum löslich, aber leicht in heißem Wasser. Löslich in Alkalien und verdünnten Mineralsäuren. L. u. J.: Aus der alkalischen Lösung wird es durch Essigsäure als Gallerte gefällt, in der sich allmählich schöne Krystallbüschel bilden.	
Optisches Verhalten	Dreht in $\frac{2}{10}$ -NaOH gelöst in ca. 2%iger Lösung: $[\alpha]_D^{20} = -60^\circ$.	L. u. J.: In $\frac{2}{10}$ -NaOH in ca. 3%iger Lösung: $[\alpha]_D^{20} = -59,5^\circ$ und $60,5^\circ$.	
Schmelzpunkt	Sintert und zersetzt sich unter Verkohlung gegen 240° .	L. und J.: Rasch erhitzt sintert es bei 237° unter Verkohlen zusammen.	Beim gleichzeitigen Erhitzen verhielten sich beide Präparate in gleicher Weise.
Reaktionen	Reduziert nicht Fehling'sche Lösung. Mit Phloroglucin und Salzsäure Pentosenreaktion. Mit Diazobenzolsulfosäure in alkalischer Lösung keine Rotfärbung. Wird in saurer Lösung durch Phosphorwolframsäure gefällt. Auch Mercurinitrat gibt eine Fällung. Silbernitrat ruft einen gallertartigen Niederschlag hervor, der sich in Ammoniak löst.	Ebenso (L. u. J.). Ebenso (L. u. J.). Ebenso. Ebenso. Ebenso.	

	Vernin	Guanosin	Bemerkungen
Pikrat	Das Pikrat krystallisiert in kugeligen Aggregaten, die aus Büscheln feiner Nadeln bestehen. Schmelzpunkt inkonstant (unter Zersetzung) meist um 185° gefunden.	Ebenso.	Bei gleichzeitigem Erhitzen trat die Zersetzung beider Präparate in gleicher Weise ein. Mischprobe gab keine Schmelzpunktsdepression.
Spaltung	Durch Kochen mit 1%iger Schwefelsäure gespalten in: 1. Guanin 2. Pentose.	L. u. J.: Durch Kochen mit $\frac{1}{10}$ -norm.-Schwefelsäure gespalten in: 1. Guanin 2. Pentose (d-Ribose).	
Eigenschaften der Pentose	Die Pentose dreht in etwa 5%iger Lösung: $[\alpha]_D^{18-19} = -17,7^\circ$ (wahrscheinlich aber höher).	L. und J.: $[\alpha]_D = -19,3^\circ$ in etwa 3,5%iger Lösung.	Für l-Ribose nach van Ekenstein und Blanksma ¹⁾ $[\alpha]_D = +18,8^\circ$.
Optisches Verhalten			Für die Pentose aus Inosin geben Hauser und Wenzel ²⁾ $[\alpha]_D^{17} = -19,6^\circ$ an.
p-Bromphenylosazon	Das p-Bromphenylosazon der Pentose krystallisiert in hellgelben sechsseitigen Blättchen, die gegen 180° sintern und bei 182—183° schmelzen. Sehr schwer löslich in heißem Wasser, leicht löslich in Alkohol, Pyridin und Äther. Das p-Bromphenylosazon dreht in 2%iger Lösung in der Neubergschen Pyridinalkoholmischung im 1 dm-Rohr nach 24 Stunden — 0,78°.	L. u. J.: Das p-Bromphenylosazon der Pentose (d-Ribose) krystallisiert in hellgelben sechsseitigen Blättchen, die gegen 175° sintern und beim weiteren Erhitzen zwischen 180—185° (korr.) schmelzen. Zeigt die gleichen Löslichkeitsverhältnisse. L. u. J.: Das p-Bromphenylosazon dreht in 2%iger Neubergscher Mischung im 0,5 dm-Rohr nach 24 Std. — 0,36° (d. i. im 1 dm-Rohr — 0,72°).	Stedel und Brigl ³⁾ erhielten aus der Pentose der Guanylsäure ein p-Bromphenylosazon, welches bei 177° zu sintern begann und bei 180° schmolz. Mit Arabinose-p-bromphenylosazon gemischt gab es keine Schmelzpunktsdepression. Letztere Beobachtung hatten wir auch an dem Osazon aus der Verninpentose gemacht.

¹⁾ Van Ekenstein und Blanksma, zit. von Levene und Jacobs, Ber. der Deutsch. chem. Ges., Bd. XLII, S. 3247 [1909].

²⁾ Hauser und Wenzel, Monatsh. f. Chemie, Bd. XXX, S. 147 (1909).

³⁾ Steudel und Brigl, Diese Zeitschrift, Bd. LXVIII, S. 50 [1910].

Mit der Erkenntnis der Identität des Vernins und des bei der Spaltung von Nucleinsäuren auftretenden Guanosins ist nun auch die physiologische Bedeutung des Vernins erkannt. Vernin ist ein Bestandteil der Nucleinsäuren höherer wie niederer Pflanzen, sowie des Tierkörpers.¹⁾ Es wird sowohl bei der künstlichen Spaltung, wie im natürlichen Stoffwechsel aus dem Molekül der Nucleinsäuren, d. h. auch der Nucleine frei.

Vernin (Guanosin) ist im freien Zustand gefunden worden: 1. in höheren Pflanzen, und zwar sowohl in jungen grünen Pflanzen, wie in etiolierten Keimpflanzen, in unreifen und reifen Samen, im Blütenstaub; 2. in Pilzen (Mutterkorn);²⁾ 3. in tierischen Organen (Pankreas).¹⁾ Als Bestandteil von Nucleinsäuren nachgewiesen: 1. Nucleinsäuren höherer Pflanzen (Triticonucleinsäure);¹⁾ 2. Nucleinsäuren von Pilzen (Hefenucleinsäure); 3. Nucleinsäuren tierischer Organe (Guanylsäure).

Die Pentose des Guanosins (Vernins) ist nach Levene und Jacobs³⁾ mit jener des Inosins identisch und als d-Ribose erkannt. Dieser Zucker ist früher niemals in der Natur aufgefunden worden, doch ist sein Vorkommen weniger überraschend, wenn man in Betracht zieht, daß der der Ribose entsprechende Alkohol, der Adonit, als einziger natürlich vorkommender Pentit schon seit einer Reihe von Jahren bekannt ist.⁴⁾ Der Adonit ist also nicht, wie noch jüngst Treboux⁵⁾ annehmen durfte, der einzige Vertreter der Ribosegruppe im Pflanzenreich.

Auf die Wahrscheinlichkeit des Vorkommens der Ribose

¹⁾ Man vergleiche Levene u. Jacobs, «Über das Vorkommen des freien Guanosins in der Pankreasdrüse». Biochem. Zeitschrift, Bd. XXVIII, S. 127 [1910].

²⁾ Siehe die Zusammenstellung bei E. Schulze, Diese Zeitschrift, Bd. LXVI, S. 128 [1910].

³⁾ Levene und Jacobs, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XLII, S. 3247 [1909]. — Siehe auch Haiser und Wenzel, Monatshefte für Chemie, Bd. XXXI, S. 357 [1910].

⁴⁾ E. Merck, Jahresbericht 1892. — Archiv der Pharmazie, Bd. CCXXXI, S. 129 [1893].

⁵⁾ Treboux, Stärkebildung aus Adonit im Blatte von Adonis vernalis, Ber. d. Deutsch. bot. Gesellsch., Bd. XXVII, S. 428 [1909].

im Pflanzenreich hat übrigens schon Emil Fischer hingewiesen: «Seine Entdeckung (des Adonits) ergänzt die neueren Beobachtungen über die weite Verbreitung der Pentosen im Pflanzenreiche und macht es wahrscheinlich, daß man hier auch der Ribose oder ihrem optischen Isomeren begegnen wird.»¹⁾

Anmerkung: Bei der Hydrolyse von Hemicellulosen aus den Samenkernen von *Corylus avellana* und *Cucurbita Pepo* erhielten kürzlich E. Schulze und Ch. Godet (Diese Zeitschrift, Bd. LXI, S. 314 [1909]) Pentosen, die nicht zur Krystallisation zu bringen waren und die weder mit Arabinose noch Xylose identisch zu sein schienen. Es wurde damals geäußert: «Man könnte zur Erklärung annehmen, daß hier eine leicht lösliche und schwer krystallisierende Pentose, die bis jetzt nicht bekannt war, sich vorfand; doch entbehrt selbstverständlich eine solche Vermutung bis jetzt noch der genügenden Stütze.»

Da es recht gut möglich ist, daß die Pentose jener Hemicellulosen mit d-Ribose identisch ist, so sollen diese Hemicellulosen in einer neuen Untersuchung daraufhin geprüft werden. Sowohl *Corylus avellana* als *Cucurbita Pepo* gehören zu jenen Pflanzen, in welchen Vernin nachgewiesen wurde.

Es ist bekanntlich oft recht schwierig festzustellen, ob eine bei der Hydrolyse eines hochmolekularen Stoffes isolierte Verbindung als primäres Spaltungsprodukt aufgefaßt werden darf. Insbesondere bei solchen komplexen Stoffen, die der Hydrolyse einen großen Widerstand entgegensetzen, ist die Möglichkeit sehr groß, daß die schließlich erhaltenen Produkte weiteren, sekundären Vorgängen ihre Entstehung verdanken. Jedenfalls trägt es zur Erkenntnis des Aufbaues komplexer Stoffe wesentlich bei, wenn es gelingt, ihre Spaltungsprodukte in freier Form in pflanzlichen oder tierischen Organen nachzuweisen. Zu jenen schwer aufspaltbaren Verbindungen gehören nun auch die Nucleinsäuren und gerade bei diesen hat die weitergehende Veränderung ihrer Spaltungsstücke (insbesondere der Kohlenhydratkomplexe) eine nähere Erkenntnis ihres Aufbaues sehr erschwert.

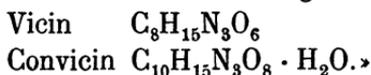
Man könnte sich nun die Frage vorlegen, ob nicht außer den schon lange bekannten, in ihrer Beziehung zum Nucleinsäuremolekül aber erst seit ganz kurzem aufgeklärten Pentosiden, Vernin (Guanosin) und Carnin (Inosin) auch noch andere natür-

¹⁾ E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXVI, S. 633 [1893].

liche glukosidartige Verbindungen bekannt sind, die uns über den Aufbau und den Stoffwechsel der Nucleinsäuren einiges sagen könnten.

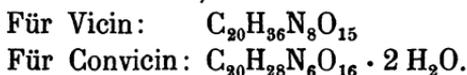
Unserer Ansicht nach dürften die von Ritthausen¹⁾ entdeckten und näher untersuchten²⁾ Vicine, nämlich das Vicin und das Convicin berufen sein, wenn auch nur indirekt, interessante Aufschlüsse zu den hier angedeuteten Problemen über den Aufbau der Nucleinsäuren zu geben.

Im Jahre 1899 schloß Ritthausen³⁾ seine Arbeiten über Vicin und Convicin ab und formulierte die wesentlichsten Ergebnisse seiner Forschung in folgender Weise: «Zwischen Vicin und Convicin besteht eine gewisse Ähnlichkeit in der durch die Formeln bezeichneten Zusammensetzung:



«Aus Vicin entsteht Divicin $\text{C}_4\text{H}_7\text{N}_4\text{O}_2$, durch Oxydation mit Salpetersäure übergehend in Allantoin $\text{C}_4\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_3$. Aus Convicin entsteht Alloxanthin $\text{C}_8\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_8 + 2 \text{H}_2\text{O}$. Da Vicin als Glukosid erkannt, Convicin wahrscheinlich ein eben solcher Körper ist, so kann ihre Verwandtschaft unter einander in der Konstitution kaum bezweifelt werden.»

Diese Verwandtschaft, die sich auch durch ähnliche Eigenschaften und Reaktionen zu erkennen gibt, ist übrigens von Ritthausen in früheren Arbeiten verneint und später auch nicht genügend bewiesen worden. Sie tritt aber recht deutlich hervor, wenn man die Formeln der beiden Verbindungen in der folgenden Weise, die sowohl nach den Analysenwerten Ritthausens, wie mit Rücksicht auf das Gesetz der paaren Atomzahlen, beim Fehlen jeglicher Grundlage über die Molekulargröße, durchaus statthaft ist, umformt.



¹⁾ Ritthausen, Journal f. prakt. Chemie [2], Bd. II, S. 336 [1870]. — Bd. VII, S. 374 [1873]. — Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. IX, S. 301 [1876].

²⁾ Ritthausen, Journ. f. prakt. Chem. [2], Bd. XXIV, S. 202 [1881].

³⁾ Ritthausen, Journ. f. prakt. Chem. [2], Bd. LIX, S. 480 [1899]. — Ritthausen und Preuss, Journ. f. prakt. Chemie [2], Bd. LIX, S. 487 [1899].

