

Chemie und psychiatrische Shocktherapie.

Von

Dr. Julius Schuster,

Gerichtssachverständiger des Kgl. ung. Gerichtshofes in Budapest, ehemaliger I. Assistent der Psychiatrisch-Neurologischen Universitätsklinik der Kgl. ung. Péter-Pázmány-Universitätsklinik in Budapest.

(Eingegangen am 2. März 1938.)

Einleitung.

In einer Arbeit „Zur Entdeckung der Insulinshocktherapie bei akuten Geisteskrankheiten insbesondere bei der Schizophrenie“ habe ich über die physiologisch-chemischen Grundlagen der Insulinwirkung berichtet, auch meine Priorität gegenüber *Sakel* wieder einmal betont.

Daß die von *Meduna* eingeleitete Cardiazolbehandlung der Schizophreniekranken auch verwandte Züge mit der Insulintherapie hat, beweisen folgende Tatsachen in dieser Arbeit. Bei der Insulinbehandlung werden Kohlehydrate in Fett, Phosphatide und Phosphornucleinsäuren durch Phosphorylierung und Lecithinbildung hervorgerufen.

Durch Cardiazol werden Muskelglykogen zu Zucker, Fett, Phosphorsäure, Muskeladenylsäure zur Lecithinbildung angefacht.

Diese Arbeit zählt die in der psychiatrischen Shocktherapie wirkenden chemischen Stoffe und ihre Zusammenhänge auf.

I. Die Grundlagen der Pyocyanetherapie Julius Wagner v. Jaureggs, der Schizophrenie und der Psychosen.

Naturfarbstoffe.

Siehe *H. Rupe*: Chemie der natürlichen Farbstoffe. Braunschweig: F. Vieweg & Sohn 1909.

P. Brigl: Die chemische Erforschung der Naturfarbstoffe. Braunschweig: F. Vieweg & Sohn 1921.

In ägyptischen Königgräbern sind mit *Alizarin* und *Indigo* gefärbte Gewebe aufgefunden. *Safran* wurde von den Griechen benutzt, die Römer bedienten sich des roten *Kermes*-Farbstoffes. Die Entdeckung Amerikas brachte die *Cochenille* und damit den *Carmin*-Farbstoff nach Europa.

Das Molekül des Alizarins wurde 1868 durch *Graebe* und *Liebermann* aufgedeckt, später auch die anderen *Poly-oxy-antrachinone* aus Krapp und Chaywurzel, Rhabarber und Aloe.

In die zweite Hälfte des 19. Jahrhunderts fallen die bedeutsamen Arbeiten von *A. v. Bayers* über *Indigo* bis zur technischen Synthese (*Heumann, Pfleger*).

Der antike Purpur erwies sich als *Dibrom-Indigo* (*Friedländer* 1912). Den Melaninen aus tierischen und pflanzlichen Geweben liegt ebenfalls der -Indolkern zugrunde.

Indischgelb wurde von Graebe und Neuberg synthetisiert. Gegen Ende des Jahrhunderts wurden die Pigmente gefärbter Hölzer (*Morin*, *Quercetin*, *Hämatoxylin* usw.) einer eingehenden Untersuchung unterzogen, ein Jahrzehnt später die *Anthocyane* der Blüten und Früchte analysiert und künstlich dargestellt (Karrer, Robinson, Willstätter).

Die Schildlausfarbstoffe (*Carmin*, *Kermes*, *Laccain*) sind als Abkömmlinge des Anthrachinons identifiziert worden (Dimroth).

Anfang des 20. Jahrhunderts beginnt die Erforschung der wichtigsten biologischen *Katalysatoren des Chlorophylls* und des *Blutfarbstoffes*, die durch H. Fischer, W. Küster, R. Willstätter und deren Schüler erfolgreiche Bearbeitung fanden. Auch das Atmungsferment *Cytochrom*, die *Katalyse* und *Peroxydase* haben sich zur *Porphinreihe* gehörig erwiesen.

Parallel laufen die Untersuchungen der *Carotinoide* durch H. v. Euler, P. Karrer, R. Kuhn, R. Willstätter, L. Zechmeister, welche durch die Beziehung des Carotins zum wachstumfördernden Vitamin A erneutes biologisches Interesse erlangt haben.

Die *Pilzfarbstoffe* wurden durch F. Kögl als Derivate des Terphenylchinons, *Antrachinons* und Phenantrenchinons erkannt. Als färbende Komponente der meisten Flechten wurden *Vulpinsäure* und *Usninsäure* gefunden. Von Rindenpigmenten sind jene der Cotorinde, *Kawa*- und *Curcumawurzel* hervorzuheben. Eine neue Klasse von Naturfarbstoffen wurde in den Phenazinabkömmlingen *Pyocyanin* und *Chlororaphin* aus Bakterien erschlossen (F. Wrede, F. Kögl).

Der gelbe Flügelfarbstoff des *Citronenfalters*, das *Xanthopterin*, ebenso wie das farblose *Leukosterin* des Kohlweißlings, enthalten mehrere Purinkerne (H. Wieland und C. Schöpf).

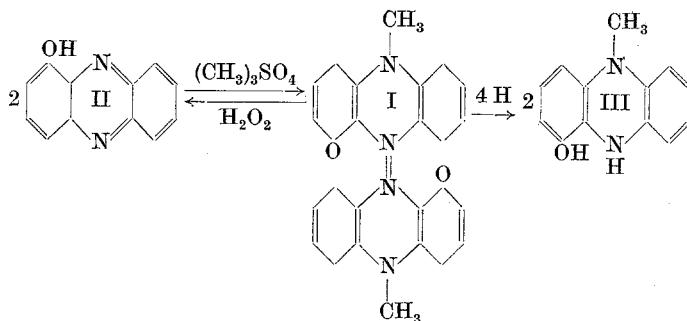
Das *Alloxazin-Ringsystem* liegt den *Lyochromen* oder *Flavinen*, denen Vitamin **B₂**-Wirkung zukommt, zugrunde.

Natürliche Vertreter der Klasse der *Phenazinfarbstoffe* ist man bisher nur im Lebensprozeß von Bakterien begegnet.

Pyocyanin $C_{26}H_{20}O_2N_4$ (Pikrat Zers. 190°), der blaue Farbstoff des Bacillus *Pyocyanus*¹, besitzt untenstehende Struktur I. Seine Oxydation mit H_2O_2 liefert neben *Ameisensäure* 1-Oxy-phenazin (II) $C_{12}H_8ON_2$, F. 158°, letzteres wird auch bei der Zeiselschen Methode außer *Jodmethyl* erhalten². Auch durch katalytische Hydrierung wird das Molekül halbiert, unter Bildung von 1-Oxy-N-Methyl-dihydro-phenazin III.

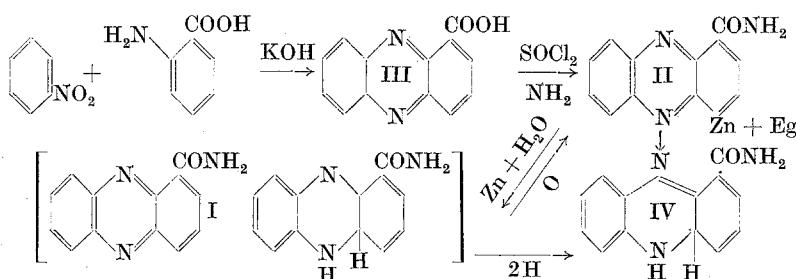
Synthetisch ist *Pyocyanin* auf zwei Wegen zugänglich. Sowohl durch Kondensation des O-Chinons von Pyrogallol 1-Methyläther mit O-Phenylendiamin zu 1-Oxy-phenazin (II) als auch von 1-Methoxy-2,3-diaminobenzol mit 3,5-Diamino-O-Chinon zu 1-Oxy-6,8-diamino-phenazin-Eliminierung der Aminogruppen und darauffolgende Methylierung³.

¹ J. of exper. Med. 54, 209. — ² Z. physiol. Chem. 140, 1; 142, 103; 181, 58. — ³ Z. physiol. Chem. 177. — B, 62, 2051.



Pyocyanin spielt im Organismus der Bakterien die Rolle eines Hilfsfermentes der Atmung, denn es vermag Oxyhämoglobin und Hämoglobin in Methämoglobin überzuführen¹. Es wirkt auch beschleunigend auf die Atmung nicht farbstoffbildender Bakterien, sowie der kernlosen roten Blutzellen² und des Carcinomgewebes³.

Chlororaphin (I) C₂₆H₂₀O₂N₆, F. 225—230° (Zers.), das grüne Stoffwechselprodukt des *Bacillus chlororaphis*, wurde als *chinhydronartige* Verbindung von *Phenazin-α-carbonsäure-amid* (II) und dessen *Dihydro*-stufe (IV) erkannt. Die Luftoxydation des Farbstoffes führt zum gelben Oxy-chlororaphin (II) C₁₃H₉ON₃, F. 241°, das einerseits durch Verseifung zu Phenazin-α-carbonsäure (III) C₁₃H₈O₂N₂ blaßgelb, F. 237° und Ammoniak, andererseits durch Synthese aus Phenazin-α-carbonsäure-amid identifiziert wurde. *Chlororaphin* und *oxychlororaphin* gehen durch Reduktion in das orangegelbe Dihydrophenazin-α-Carbonsäure-amid (IV) C₁₃H₁₁ON₃ I 194° über. Die Totalsynthese des Chlororaphin aus Nitrobenzol und Anthranilsäure nimmt folgenden Verlauf⁴:



Die Chinhydronstruktur des Farbstoffes geht eindeutig aus der Partialsynthese aus den beiden Komponenten II und IV hervor; die unsymmetrische Formel ist durch die Bestimmung der aktiven Wasserstoffatome bewiesen⁵.

¹ N. 21, 350. — ² J. of biol. Chem. 91, 355. — ³ Biochem. Z. 2, 58, 315. — ⁴ A. 480, 280. — ⁵ A. 497, 265.

Alloxazinfarbstoffe.

*Lyochrome Flavine*¹ sind gelbe bis gelbrote Farbstoffe mit ausgeprägter gelbgrüner Fluoreszenz, welche sowohl aus tierischen Organen und Produkten wie Leber (Hepaflavin $C_{17}H_{20}O_6N_4$, F. 286°)², Herz, Nieren, Muskel (Cytoflavin³), Tumoren⁴, Gehirn, Auge, Corpus lutemin⁵, aus Hühnereiern (Ovoflavin $C_{17}H_{20}O_6N_4$, Zers. 267°)⁶, Molken (*Lactoflavin* $C_{17}H_{20}O_6N_4$, F. 278°, Zers.)⁷, Urin (Uroflavin, F. 272°, Zers.⁸), *Liquor cerebrospinalis*⁹ als auch aus pflanzlichem Material, Spinat, Tomaten usw., ferner aus Hefe und verschiedenen Bakterien durch Adsorption an Fullererde, Bleicherde, Bleisulfid usw. und *Pyridinelution* dargestellt wurden¹⁰. Sie stehen in naher Beziehung zum zweiten CO- und HCN-unempfindlichen Atmungsferment, das *Warburg* aus *Blut* und *Hefe* isoliert hat.

Abs. Max. 471, 445 m μ ¹¹.

In den analytischen Befunden (20—30% *N-Gehalt*) und in ihrem optischen Verhalten (Abs. max. des Farbstoffes aus Rinderherz 242, 267, 445 m μ , aus Eieralbumin 267, 360, 433, 446 m μ) zeigen sie mit der Gruppe der Schmetterlingsfarbstoffe Pterine 2 B. Xanthopterin (Abs. max. 243, 267, 360, 391 m μ)¹² und mit Alloxazin (Abs. max. bei 260, 330, 425 m μ)¹³ große Ähnlichkeit (vgl. *Lactoflavin*).

Einige der oben angeführten Flavinpräparate scheinen jedoch mit dem 1879 von *A. W. Blyth* zuerst entdeckten Lactoflavin identisch zu sein (s. auch *Vitamin*).

In der Natur treten die Flavine auch in nicht dialysierbarer Form an hochmolekulare Stoffe gebunden als Flavoproteine auf, z. B. in der Leber, in Hefe¹⁴ (*Vitamine!*).

Die wasserlöslichen und dialysierbaren, in indifferenten organischen Solventien unlöslichen, licht- und alkaliempfindlichen Pigmente sind durch *Vitamin B₂-Wirkung* ausgezeichnet. Ihre *amphotere* Natur äußert sich durch Bildung von PB.Ag.- und Ti.-Salzen und die PH-Abhängigkeit ihrer Fluoreszenz¹⁵. Die gegen Oxydationsmittel beständigen Farbstoffe lassen sich durch hydrosulfat-katalytische Hydrierung mittels Palladinin oder durch Zn, Na-Amalgan in saurer Lösung über eine rote, radikalartige Zwischenstufe¹⁶ (vgl. dasselbe Verhalten des Alloxazins¹⁷) zu ihren Leuko-Verbindungen reduzieren und daraus durch Schütteln mit Luft oder durch Bromwasser auch Methylenblau regenerieren; diese Eigenschaft verleiht ihnen den Charakter *natürlicher Redoxsysteme*¹⁸.

¹ Wagner-Jauregg, Th.: Flavine. Z. angew. Chem. **47**, 318 (1934). — ² Z. physiol. Chem. **212**, 7, 20. — ³ B. **66**, 555. — ⁴ Helv. **17**, 419. — ⁵ Biochem. Z. **2**, 203, 246. — ⁶ N. **21**, 496. — ⁷ Z. physiol. Chem. **223**, 105. — ⁸ B. **66**, 576. — ⁹ Biochem. Z. **155**, 54. — ¹⁰ B. **66**, 808, 1034, 1411, 1577, 1950. — ¹¹ N. **21**, 720. — ¹² B. **67**, 761. — ¹³ N. **21**, 405. — ¹⁴ B. **66**, 315, 317. — ¹⁵ Biochem. Z. **2**, 206, 242, 254, 257, 258, 438, 492, 496. N. **20**, 688, 980. — ¹⁶ B. **58**, 2178; **59**, 20, 67. — ¹⁷ B. **67**, 898. — ¹⁸ Biochem. Z. **2**, 266, 377. — Z. physiol. Chem. **223**, 241. — ¹⁵ B. **67**, 888. — ¹⁶ B. **67**, 361. — ¹⁷ B. **67**, 898. — ¹⁸ N. **21**, 496. — B. **66**, 1298, 1950; **67**, 361.

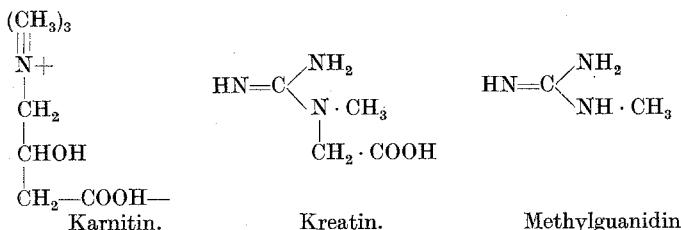
Flavine steigern die Atmung von Bakterien¹, der Erythrocyten² und der Zellgewebe höherer Tiere.

II. Muskelkrämpfe: Chemische Stoffe, welche durch Cardiazol angefacht werden (L. v. Medunas Konvulsionstherapie der Schizophrenie).

Stickstoffhaltige Extraktivstoffe.

Der Muskelextrakt enthält eine große Zahl von niedermolekularen N-haltigen Substanzen. Nach der Menge des Vorkommens steht unter ihnen weitaus an erster Stelle das Kreatin, das aber im frischen Muskel nicht in freier Form, sondern gebunden an Phosphorsäure, als Phosphokreatin, vorkommt und deshalb erst weiter unten besprochen werden soll. An Stelle des Kreatins, das sich im wesentlichen in der Skelettmuskulatur der Wirbeltiere findet, enthält die Muskulatur der Wirbellosen das Arginin (*Ackermann* und *Kutscher*), und zwar ebenfalls in Bindung an Phosphorsäure.

Als charakteristische Muskelextraktivstoffe sind anzusehen das Kar nosin (*Gulewitsch*) und sein Methylderivat, das Anserin (*Ackermann*), sowie das Karnitin (*Krimberg*). Das Karnitin ist nach seiner Formel das Betain einer γ -Amino- β -oxybuttersäure (γ -Butyrobetain).



Auch das gewöhnliche Glykokollbetain kommt im Muskel der Wirbellosen und der Fische regelmäßig vor, ist aber bisher in der Muskulatur der höheren Wirbeltiere nicht aufgefunden worden. Außer diesen vollständig methylierten Produkten — in erster Linie in den Muskeln der Wirbellosen — durch *Ackermann* und seine Schule (*Kutscher, Hoppe-Seyler*) noch zahlreiche andere methylierte N-haltige Stoffe isoliert worden, deren physiologische Bedeutung aber noch nicht bekannt ist. Von stoffwechselchemischem Interesse ist vielleicht das Vorkommen von Methylguanidin, das möglicherweise als Vorstufe oder als Abbauprodukt des Kreatins (Methylguanidinessigsäure) anzusehen ist.

Als weiterer, funktionell äußerst wichtiger Bestandteil der Muskulatur muß das Acetylcholin angeführt werden, das bei Reizung cholinergischer Fasern, also auch im Muskel, frei gesetzt wird und durch dessen Vermittlung die Übertragung des Reizes vom Nerven auf das Erfolgsorgan zu stande kommt.

¹ Z. physiol. Chem. 245, 41. — ² N. 21, 720.

Zu den funktionell wichtigen N-haltigen Bestandteilen des Muskels gehört ferner die Muskeladenylsäure. Auch sie soll als P-haltiger Baustein und wegen der besonderen Rolle, die sie bei der Kontraktion spielt, erst später besprochen werden. Neben der Adenylsäure finden sich im frischen Muskel andere Purinderivate höchstens in Spuren. Ermüdete und abgestorbene Muskulatur enthält dagegen als Abbauprodukte der Adenylsäure noch Inosinsäure, Hypoxanthosin, Hypoxanthin und Xanthin.

Schließlich seien von anderen, in ihrer funktionellen Bedeutung meist noch nicht erkannten N-haltigen Substanzen erwähnt geringe Mengen von Harnstoff, Aminosäuren und höheren und niederen Polypeptiden. Unter den Polypeptiden nimmt wegen seiner Bedeutung für die Zellatmung und vielleicht auch für andere fermentative Vorgänge das Glutathion eine besondere Stellung ein.

Fette und Lipoide.

Die Frage nach dem Gehalt der Muskulatur an Fetten ist besonders deshalb von Bedeutung, weil immer wieder das Fett als eine der Energiequellen der Muskelarbeit angesehen worden ist. Die heutige Theorie der Muskeltätigkeit beruht zwar auf der Vorstellung, daß die Muskelkontraktion energetisch letzten Endes durch den Umsatz von Kohlehydraten möglich gemacht wird, aber es sprechen doch eine Reihe von Befunden dafür, daß vielleicht auch die Fette in den Prozeß der Energielieferung einbezogen werden können, wahrscheinlich besonders dann, wenn der Kohlehydratbestand des Muskels weitgehend erschöpft ist oder seine Verwertung aus irgendwelchen Gründen nicht möglich ist. Im Verbande des ganzen Organismus scheinen dazu allerdings weniger die Lipoide des Muskels als *die Blutlipoide herangezogen zu werden*.

Der Fettgehalt des Muskels unterliegt großen Schwankungen, die vor allem vom Ernährungszustand abhängen, so daß diese Fette wohl als Depotfett angesehen werden müssen. Von größerer funktioneller Bedeutung ist der Gehalt des Muskels an Cholesterin und an *Phosphatiden* (*Lecithin* und *Kephalin*), in denen wir nach früheren Ausführungen unentbehrliche Bausteine der Muskelgrenzflächen zu erblicken haben. Besonders reich an den beiden Lipoidfraktionen ist die Herzmuskulatur.

Kohlehydrate, ihre Abbauprodukte und andere N-freie Substanzen.

Unter den verschiedenen Kohlehydraten des Muskels steht mengenmäßig weitaus an der Spitze das Glykogen. Seine Menge unterliegt aber großen Schwankungen. Die Konzentrationen sind für Muskeln der Warmblüter und des Frosches etwa 0,5—2 %. Beim Frosch sind die Schwankungen vor allem jahreszeitlich bedingt. Im Herbst und Winter findet man im allgemeinen wesentlich höhere Werte als im Frühjahr und im Sommer. Beim Warmblüter ist die Höhe des Glykogengehaltes besonders von seinem funktionellen Zustand abhängig. Der gut trainierte, arbeits-

gewohnte Muskel hat nach *Embden* und *Habs* sowie *Procter* und *Best* wesentlich höhere Glykogenwerte als der untrainierte Muskel. Wenn, wie weiter unten gezeigt wird, der Muskel die Energie für seine Arbeit durch den Abbau von Glykogen deckt, so ist in einer Erhöhung des Glykogengehaltes die Voraussetzung für eine wesentliche Steigerung seiner Leistungsfähigkeit zu erblicken.

Außer dem Glykogen sind im Muskel als Zwischenprodukte des Kohlehydratstoffwechsels Dextrine, Maltose und Traubenzucker in ziemlich geringer Konzentration nachgewiesen worden. Ein wichtiges Zwischenprodukt ist weiterhin die Hexosemonophosphorsäure Lactacidogen, über die, da sie zu den P-haltigen Muskelbausteinen gehört, erst im folgenden Abschnitt gesprochen werden soll.

Ein Spaltprodukt des Glykogens, und zwar die Stabilisierungsstufe seines anaeroben Abbaus, ist die Milchsäure, die stets im Muskel gefunden wird. Auch der ganz frische Muskel enthält geringe Mengen, die etwa zwischen 0,01 und 0,02% gelegen sind. Untersucht man den Muskel erst einige Zeit nach der Entnahme aus dem Körper, so sind die Werte wesentlich höher. Sie erfahren eine weitere Erhöhung, wenn man den Muskel durch Erwärmung auf höhere Temperaturen, durch Vergiftung mit Chloroform oder andere Stoffe in Starre versetzt. Auch bei der im Verlaufe des Absterbens des Muskels auftretenden Totenstarre hat der Muskel gewöhnlich einen hohen Milchsäuregehalt. Alle Starreformen beruhen wohl auf irreversiblen Zustandsänderungen der Muskeleiweißkörper, vielleicht im Sinne einer Gerinnung. Man hat früher den Eintritt der Totenstarre und die Ausbildung der anderen Starren als durch den Anstieg des Milchsäuregehaltes im Muskel bedingt angesehen. Das ist aber wahrscheinlich nicht richtig, da es Starreformen gibt, bei denen der Milchsäuregehalt gar nicht erhöht ist und weiterhin auch deshalb nicht richtig, weil ein Muskel, der sehr wenig Glykogen enthält und daher nur geringe Mengen Milchsäure bilden kann, besonders leicht und rasch in Starre geht. Sehr wahrscheinlich hängt die Ausbildung der Totenstarre mit der Ammoniakbildung im Muskel zusammen.

Die höchsten Milchsäurewerte erhält man, wenn man einen Muskel zerschneidet und in schwach alkalischen Pufferlösungen (Natriumbicarbonat oder Phosphat) suspendiert einige Stunden bei einer Temperatur von etwa 40° aufbewahrt. Unter diesen Bedingungen kann der gesamte Glykogenbestand des Muskels zu Milchsäure aufgespalten werden. In Abwesenheit der Puffer kommt die Milchsäurebildung wegen der sich allmählich ausbildenden sauren Reaktion durch Selbsthemmung zum Stillstand. Verhindert man während der Milchsäurebildung den Zutritt von Sauerstoff, schließt also die Oxydation aus, so entspricht die gebildete Milchsäuremenge ziemlich genau dem Glykogenverlust (*Meyerhof*).

Es bedeutete einen Markstein in der Erforschung des Muskelchemismus, als *Fletcher* und *Hopkins* zeigten, daß auch die Tätigkeit des Muskels

zu einer Vermehrung der Milchsäure führt und daß zwischen der Höhe des Milchsäuregehaltes und dem Ausmaß der Tätigkeit eine gewisse Proportionalität besteht. Schließlich führt auch jede Anaerobiose — auch die des ruhenden Muskels — zu einer Vermehrung der Milchsäure. Die Menge der gebildeten Milchsäure hängt von der Dauer der Anaerobiose ab. Auch unter diesen Bedingungen entspricht die gebildete Milchsäuremenge der Menge des verschwundenen Kohlehydrats. Ohne jeden Zweifel ist also das Glykogen die Muttersubstanz der Milchsäure, jedoch nicht die unmittelbare Muttersubstanz. Die Erforschung der Rolle der Phosphorsäure beim Kohlehydratabbau führte zu der Erkenntnis, daß der Glykogenabbau über phosphorylierte Zwischenstufen, und zwar über das Lactacidogen, verlaufen muß. Über die Rolle, die die Milchsäurebildung bei der Tätigkeit und bei anderen Veränderungen des funktionellen Zustandes des Muskels für die Entwicklung unserer Vorstellungen von den energetischen und chemischen Umsetzungen im Muskel gehabt hat, wird weiter unten gesprochen werden.

An weiteren N-freien Substanzen ist zu erwähnen der Inosit. Über seine funktionelle Bedeutung für den Muskel ist noch nichts bekannt. Schließlich finden sich in der Muskulatur einige Säuren, die wahrscheinlich mit dem Endabbau der Kohlehydrate in Zusammenhang stehen. *Es sind die Bernsteinsäure, die Fumarsäure und die Äpfelsäure.*

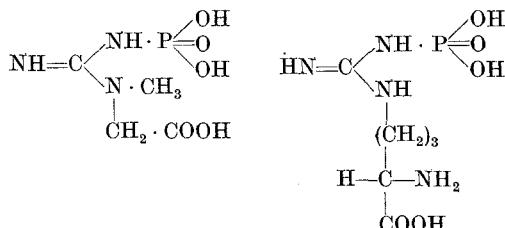
Die phosphorhaltigen Bausteine der Muskulatur.

Der Muskel enthält eine große Zahl von verschiedenen P-haltigen Substanzen, von denen die meisten für seinen Energieumsatz von entscheidender Bedeutung sind. Der Gesamt-P-Gehalt des Froschmuskels, für den die Verhältnisse am besten untersucht sind, beträgt etwa 0,5 bis 0,7% H_3PO_4 . Davon ist der größte Teil durch verdünnte Säuren aus der Muskulatur extrahierbar, ein Rest von etwa 0,1% ist nicht zu extrahieren, er entspricht ihrem Phosphatidgehalt.

Das Phosphokreatin (Kreatinphosphorsäure), zuerst von *Fiske* und *Subbarow* sowie von *Eggleton* und *Eggleton* isoliert, ist also mengenmäßig die Haupt-P-Fraktion des Wirbeltiermuskels. An seiner Stelle enthält der Muskel der Wirbellosen die Argininphosphorsäure (*Meyerhof* und *Lohmann*, *Needham*). Die beiden Substanzen sind also völlig analog gebaut und können zu der Gruppe der Guanidinphosphorsäuren zusammengefaßt werden. Sie werden auch, da sie leicht unter Abspaltung von Phosphorsäure zerfallen, als Phosphagene bezeichnet. *Dieser Zerfall erfolgt bei jeder Kontraktion des Muskels*, ihr Umfang entspricht dem Ausmaß der Tätigkeit. Während der einer Tätigkeitsperiode folgenden Erholungsperiode kommt es unter aeroben Bedingungen zu einer vollständigen, unter anaeroben Bedingungen zu einer teilweisen Resynthese der Guanidinphosphorsäuren aus Phosphorsäure und dem substituierten Guanidinrest. Die Spaltung der Guanidinphosphorsäuren ist also eine

reversible Reaktion. Die beim Zerfall des Phosphokreatins frei werdende α -Phosphorsäure ist nur zum Teil als solche nachweisbar, zu einem Teil wird sie in organische Bindung, und zwar in Lactacidogen, übergeführt.

Zwischen dem Gehalt eines Muskels von Glykogen und an Phosphokreatin besteht nach *Brentano* und *Rießler* ein in seinem Wesen noch nicht



Kreatinphosphorsäure. Argininphosphorsäure.

erkannter Parallelismus, so daß gewöhnlich das Verhältnis von Glykogen zu Kreatin im Muskel konstant ist.

Das Lactacidogen wurde als Baustein der Muskulatur von *Embden* und *Laquer* aufgefunden. Nachdem es zuerst als Hexosediphosphorsäure angesehen wurde, ist es später von *Embden* und *Zimmermann* als Hexose-monophosphorsäure erkannt worden. Eine Hexosediphosphorsäure als Bestandteil des frischen Muskels konnte bisher nicht isoliert werden, trotzdem unsere heutigen Vorstellungen vom Abbau der Kohlehydrate eine solche Verbindung als unmittelbare Vorstufe für den Zerfall des Hexosemoleküls annehmen. Bei einer Unterbrechung des normalen Abbauweges der Kohlehydrate, wie sie etwa durch Vergiftung eines Muskels mit Natriumfluorid oder den Salzen der Halogenessigsäuren (Monobrom- und Monojodessigsäure) bewirkt wird, häuft sich auch tatsächlich Hexosediphosphorsäure in großen Mengen im Muskel an. Das Lactacidogen war der erste phosphorsäurehaltige Baustein des Muskels, der in seiner chemischen Natur erkannt wurde und da man in ihm die unmittelbare Vorstufe der Milchsäure sah, suchte man seine Spaltung im Verlaufe der Kontraktion, bei der ja eine Bildung von Milchsäure erfolgt, an Hand einer Vermehrung der o-Phosphorsäure zu erweisen. In der Tat kommt es unter bestimmten Voraussetzungen bei der Kontraktion zu einem Zerfall des Lactacidogens, oft tritt aber auch eine Vermehrung ein. Aus diesem gegensätzlichen Verhalten wird deutlich, daß der Zerfall des Lactacidogens kaum von grundsätzlicher Bedeutung für die Auslösung der Kontraktion sein kann; seiner Rolle als Zwischenprodukt des Kohlehydratumsatzes widersprechen diese Befunde aber keineswegs. Ein Zwischenprodukt muß, wenn es seine Aufgabe erfüllen soll, rasch zerfallen, aber auch rasch regeneriert werden können, ein Zerfall braucht also bilanzmäßig gar nicht sehr groß zu sein und wird

vielleicht sogar vermißt. Es ist fernerhin verständlich, daß unter Bedingungen, die einen erhöhten Kohlehydratumsatz erfordern, auch die Substanz sich anreichern kann, über die der Umsatz verläuft. Dazu kommt noch, daß nach Deuticke durch die Anhäufung der Milchsäure, die mit länger dauernder Arbeitsleistung verbunden ist, eine Synthese von phosphorsäurehaltigen Zwischenprodukten des Kohlehydratstoffwechsels (Glycerinphosphorsäure und Phosphoglycerinsäure und wahrscheinlich auch ihrer Vorstufe, der Hexosediphosphorsäure) ausgelöst wird.

Die Adenylsäure (*Embden* und *Zimmermann*) und die Pyrophosphorsäure (*Lohmann*) kommen im frischen Muskel immer zu Adenosintriphosphorsäure oder Adenylpyrophosphorsäure vereinigt vor (*Fiske* und *Subbarow*, *Lohmann*), der frische Muskel enthält also weder freie Adenylsäure noch freie Pyrophosphorsäure. Nach neuen Untersuchungen ist es wahrscheinlich, daß anorganische Pyrophosphorsäure im Muskel überhaupt nicht vorkommen kann. Bei der Kontraktion wird zwar aus Adenylpyrophosphorsäure Phosphorsäure abgespalten, aber nicht als Pyrophosphorsäure, sondern als o-Phosphorsäure. Die Adenylsäure, die dabei entsteht, nicht die Adenylpyrophosphorsäure selber, wird im Muskel des Warmblüters und des Frosches durch eine spezifische Desamidase unter Abspaltung von Ammoniak in Inosinsäure umgewandelt. *Embden* sah in der Ammoniakbildung einen wesentlichen, mit der Auslösung der Kontraktion verbundenen Vorgang. Nach *Lohmann* muß das zweifelhaft sein, weil in der Krebsmuskulatur aus Adenylpyrophosphorsäure unter Abspaltung nur eines Phosphorsäuremoleküls Adenosindiphosphorsäure entsteht, die fermentativ nicht desaminierbar ist. Überdies fehlt dem Krebsmuskel auch das Ferment für die Desaminierung der Adenylsäure, er bildet bei seiner Kontraktion also überhaupt kein Ammoniak. Da nicht anzunehmen ist, daß in der quergestreiften Muskulatur verschiedener Tierarten die wirklich wesentlichen mit der Kontraktion verbundenen chemischen Vorgänge prinzipiell verschieden sind, erscheint damit auch die ursächliche oder notwendige Bedeutung der Ammoniakbildung für die Kontraktion als fraglich. Allem Anschein nach erfolgt auch im Warmblütermuskel die Phosphorsäureabspaltung aus Adenosintriphosphorsäure über Adenosindiphosphorsäure, also in zwei Stufen. Eine Ammoniakbildung wird immer nur dann nachweisbar werden, wenn die *Rephosphorylierung der Adenylsäure nicht mehr vollständig ist* (*Parnas*). Sie erreicht deshalb auch mit zunehmender Ermüdung immer höhere Werte und ganz erhebliche Vermehrung beim Einsetzen der Starre. Ebenso wie die Spaltung des Phosphokreatins und des Lactacidogens gehören auch die Abspaltung von Phosphorsäure aus Adenosintriphosphorsäure und von Ammoniak aus Adenylsäure zu den reversiblen Reaktionen, sie werden während der Erholungsperiode rückgängig gemacht und die ursprüngliche Konzentration an Adenylpyrophosphorsäure wiederhergestellt. Erst nach länger fortgesetzter Arbeit wird die

Resynthese unvollständig, so daß eine Abspaltung von Phosphorsäure aus Adenylpyrophosphorsäure nachweisbar wird (*E. Lenhartz*).

III. Die Stelle des Cardiazols in der Reihe der heterocyclischen Verbindungen.

Oxazole, Thiazole, Imidazole, Pyrazole, Triazole, Tetrazole

Oxazol, Isoxazol. 2-Methyl-4-phenyloxazol, aus *Acetamid* + α -Bromacetophenon in tautomerer Form 2-Methyl-4-phenyloxazol. Benzoylamino-acetophenon - 2-Phenyl-5-phenyloxazol. Acetyl-leucinester - 2-Methyl-4-isobutyl-5-aethoxyoxazol. N-Benzoyl-serinmethylester, 2-Phenyloxazolin-4-carbonsäureester. O-Benzoylserin.

Thiazol. Thiosäureamid, α -Bromacetophenon („Enol“), 2-Methyl-4-phenylthiazol, Thioformamid, Chloracetaldehyd, Thiazol, Benzol, Thiophen, Pyridin, Thiazol, Thiazolin, Dehydro-thio-p-Toluidin, Primulin (Farbstoffe).

Imidazol (Glyóxalin). 4-Methylimidazol, 1,4-Dimethylimidazol, 1,5-Dimethylimidazol.

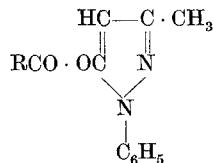
Histidin, Histamin = β -Imidazolyläthyl-amin, Hernicyn — Betain des Histidins.

Imidazolkern liegt auch mehreren Alkaloiden zugrunde, so Pilocarpin, Purinkörpern, Imidazolderivat-Sauerstoff-führend — *Hydantoin* (*Glykolylharnstoff*). Parabansäure (*Oxalylharnstoff*), Oxalursäure *Hydantoin*.

Malonsäure, *Bernsteinsäure* (Szent-Györgyi), *Barbitursäure* (Malonylharnstoff), *Pseudoharnstoffsäure* (Kläzys Therapie), *Violursäure*, *C-Dialkylbarbitursäure*, *Veronal*, *Proponal*, *Dial*, *Luminal* (Dauerschlaftherapie), *Bernsteinsäure*, *Bernsteinsäureanhydrid „Succinimid“* — zu *Pyrrol* — *Thiophen*, Farbstoffe Rhodamin.

Pyrazol. 1,5-Diphenylpyrazolin, Acetylen + Diazomethan-Pyrazol, Acetylendicarbonsäureester + Diazoessigester-Pyrazol-tricarbonsäure-ester.

Pyrazolin, *Pyrazolinderivat*. Pyrazolon (*Knorr*s), 1-Phenyl-2,3-dimethyl-5-pyrazolon (Antipyrin).



Furazane. Dialkyl-Furazan. 1,2,3-Triazole. Osotetrazine, Azimide, 1,2,4-Triazole.

Aminoguanidin, Triphenyl-amino-guanidin, Nitron, Tetrazol, Pentamethylentetrazol = Cardiazol von Medunas Krampftherapie der Schizophrenie.

Pyran, Theopyran, Pyridin. *Malto-Pyromekonsäure* (3-Oxypyron), Mekonsäure, Glucose, Maltose, Rohrzucker, Fruktose, Inulin, Dulcit, Glycerin, γ -Pyronderivat, Jangonin = γ -Pyronderivat.

Pyridin. N-Methylpyridon.

Picolin — Monomethyl-pyridine, Dimethylpyridine — Lutidine. β -Picolin, γ -Picolin, Piperidin, β -Aminopropionsäure, γ -Amino-Buttersäure, N-Benzoyl- δ -amino-Valeriansäure. *Pyridin- β -Carbonsäure-diäthylamid* = **Coramin**.

Chinolin, Isochinolin. Anilin + Acrolein = Chinolin, Tetrahydrochinolin — Decahydrochinolin, Methylchinolin = Chinaldin, Cinchoninsäure, Chinisäure.

2-Phenylchinolin-4-Carbonsäure = **Atophan**. Synthese aus Anilin-Benz-aldehyd + Brenztraubensäure.

Isatinsäure + *Acetophenon* + *Isatin* = *Methylester des Atophans* = **Novatophon**.

Der Allylester = *Atochinol*. α -Oxychinolin- γ -carbonsäure = Percain, Cyanin, Iso-Cyanin-Farbstoffe.

Cyanine Cyaninblau, Äthylrot, Isochinolin, Phthalsäure, Cinchomeronsäure.

Diazine. Pyridazin, Pyrimidin, Pyrazin, Acetylacetone + Benzamidin, 2-Phenyl-4,6-dimethyl-pyrimidin, Acrylsäureester + Harnstoff = Dioxydihydropyrimidin (Dihydouracil).

Pyrimidin, 2,4-Dimethyl-6-Aminopyrimidin (Cyanmethin).

Dioxypyrimidine und Amino-oxypyrimidine.

Uracyl, Thymin, Cytosin, 5-Methyl-cytosin.

2-Äthylmercapto-4-oxypyrimidin = Uracyl, 2-Äthylmercapto-4-chlorpyrimidin = Cytosin, Oxyderivate des Pyrimidins sind wichtige Ureide mehrerer Dicarbonsäuren.

Barbitursäure — **Alloxan**.

Pyrazine. Dioxopiperazine, wichtig im Aufbau der *Eiweißkörper*. **Glykokollester**, „Glycylanhydrid“ 2,5-Dioxopiperazin.

Purinverbindungen. Harnsäure, Alloxan, Uroxansäure, Allantoin, Isodialursäure, Pseudoharnsäure, Harnsäure. Alloxanthin, Murexid, Purpursäure (II). Harnsäure, 2,6,8-Trichlorpurin. Hypoxanthin (6-Oxypurin), Adenin (6-Aminopurin), Xanthin, Guanin. 1,3-Dimethylxanthin = Theophyllin, 3,7-Dimethylxanthin = Theobromin, 1,7-Dimethylxanthin, Paraxanthin, 1,3,7-Trimethylxanthin, Koffein. Hypoxanthin, Adenin, Guanin.

Underisäuren liefern bei totaler Hydrolyse: *Phosphorsäure*, *Zucker*, *Pyrimidine*, *Purinverbindungen*.

Nucleotide, Mononucleotide, Inosinsäure, Inosin oder Hypoxanthozin, Muskeladenylsäure, Hefadenylsäure, Guanylsäure, Cytidylsäure, Uridylsäure, Nucleinsäure (Polynucleotide), Guanin Ribose Phosphorsäure,

Uracyl Ribose Phosphorsäure, Cytosin Ribose Phosphorsäure, Adenin Ribose Phosphorsäure.

Fünfgliedrige Heterocyclen mit zwei und mehr Heteroatomen.

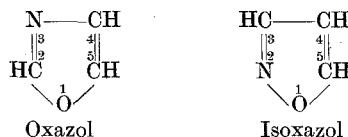
Die Verbindungen dieser Körperklasse, denen aromatischer Charakter zukommt, enthalten im heterocyclischen Kern stets ein oder mehrere Stickstoffatome. Man faßt sie unter der Bezeichnung „Azole“ zusammen und unterscheidet je nach der Natur der weiteren Heteroatome: Oxazole, Thiazole, Imidazole, Pyrazole, Triazole (mit 3 N-Atomen), Tetrazole (mit 4 N-Atomen) usw.

Angehörige dieser heterocyclischen Gruppen sind in sehr großer Zahl bekannt; die meisten erhielt man auf synthetischem Wege. Doch kommen unter ihnen auch einige Naturprodukte vor, besonders solche vom Imidazoltypus.

A. Fünfgliedrige Heterocyclen mit zwei Heteroatomen.

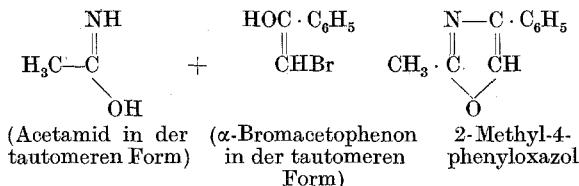
Oxazolderivate. Denken wir uns im Furan eine C—CH—H-Gruppe

durch ein Stickstoffatom ersetzt, so gelangen wir zu den Heterocyclen des Oxazols und Isoxazols:

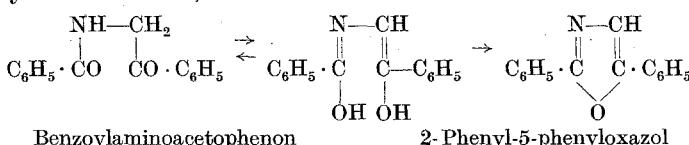


Das Oxazol selbst ist noch unbekannt, dessen Derivate lassen sich dagegen auf verschiedenen Wegen aufbauen. So erhält man Oxazolverbindungen:

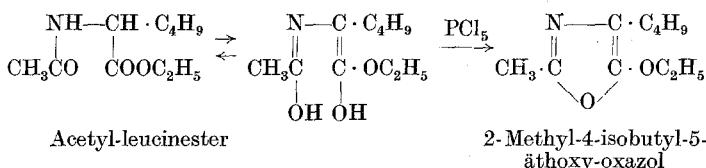
1. durch Kondensation eines Säureamids mit einem α -halogenierten Keton:



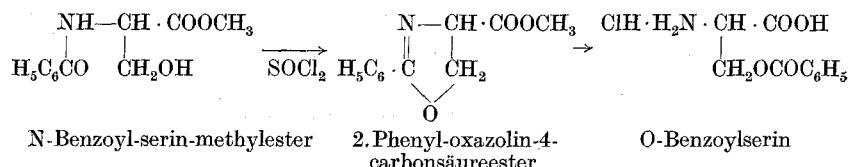
2. durch Einwirkung von Phosphorpentachlorid oder Thionylchlorid auf Acyl-amino-ketone, z. B.:



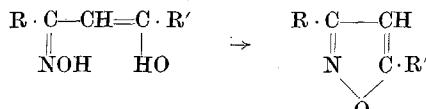
Die Oxazole sind schwache, häufig pyridinähnlich riechende Basen, die öfters gut krystallisierte Pikrate oder Platinchloriddoppelsalze geben. Durch Kochen mit Säuren lassen sie sich aufspalten. In besonderem Maße trifft dies für die 2-Alkyl-(oder Aryl)-5-alkoxy-oxazole zu, die durch Einwirkung von Phosphorpentachlorid auf acylierte Aminosäureester gebildet werden und als einfache Anhydride dieser Verbindungen im Zusammenhang mit den die Proteinchemie betreffenden Konstitutionsfragen in neuerer Zeit Beachtung gefunden haben:



Aus demselben Grunde beanspruchen auch Oxazolinderivate (Dihydro-oxazole) Interesse, die *M. Bergmann* studiert hat. Z. B. erfährt N-Benzoyl-serinmethylester unter dem Einfluß von Thionylchlorid Anhydrisierung und Ringschluß zum Ester der 2-Phenyl-oxazolin-4-carbonsäure. Während diese Oxazolinringe gegen Alkalien sehr beständig sind, werden sie schon bei schwach saurer Reaktion unter Wasseraufnahme zu O-Acylaminoäuren aufgespalten:



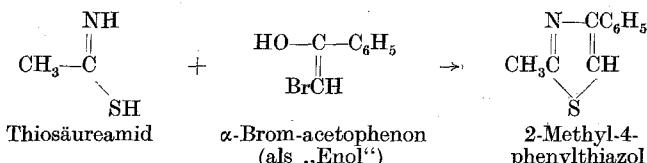
Den Isoxazolen kommt geringeres Interesse zu. Sie entstehen aus den Monoximen der β -Diketone und β -Ketonaldehyde durch Wasserentzug:



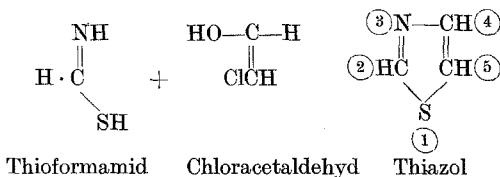
Ihrer Natur nach schwache Basen, besitzen sie vielfach pyridinähnlichen Geruch.

Thiazolderivate. Thiazolverbindungen sind durch verschiedene synthetische Verfahren, deren Ausbau besonders *Hantzsch* förderte, leicht zugänglich. Sie bilden sich z. B.

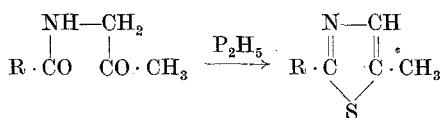
a) aus Thiosäureamiden und α -halogenierten Aldehyden oder Ketonen:



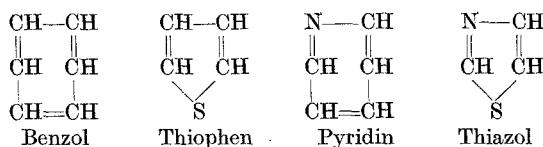
Nach dieser Methode ist auch das Thiazol selbst dargestellt worden:



b) aus acylierten Aminoaldehyden, Aminoketonen und Aminosäure-estern mittels Schwefelphosphor:



Die Thiazole zeichnen sich durch außerordentliche Beständigkeit aus; von Salpetersäure werden sie selbst in der Hitze fast gar nicht angegriffen. Reduktionsmittel sind ohne Einfluß. Ihre wässrigen Lösungen reagieren neutral, mit Mineralsäuren bilden sie beständige, sauer reagierende Salze. Das Verhalten der Thiazole erinnert stark an dasjenige der Pyridinverbindungen, mit denen sie auch im Geruch und in manchen physikalischen Konstanten fast übereinstimmen (Kp. des Thiazols 117° [korr.], des Pyridins 115°). Zwischen diesen beiden Verbindungsgruppen besteht eine ähnliche Analogie wie zwischen Benzol- und Thiophenderivaten, und auch der konstitutionelle Unterschied ist in beiden Verbindungspaaren derselbe (Ersatz von $-\text{CH}=\text{CH}-$ durch $-\text{S}-$):

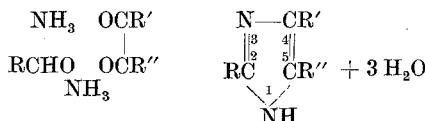


$\begin{array}{c} \text{N} - \text{CH}_2 \\ || \\ \text{HC} \quad \text{CH}_2 \\ \backslash \quad / \\ \text{S} \end{array}$ Thiazolin und dessen Derivate bieten wenig Neuartiges. Sie sind stärkere Basen als die Thiazole.

Zu den Verbindungen mit mehrkernigen, kondensierten Thiazolsystemen gehören die Farbstoffe Dehydro-thio-p-toluidin und Primulin, die an anderer Stelle besprochen wurden.

Imidazol (Glyoxalin) und Derivate. Dem Oxazol und Thiazol analog konstituiert, aber statt Sauerstoff bzw. Schwefel eine Imidgruppe —NH— enthaltend, ist das Ringsystem des Imidazols. Es liegt verschiedenen Naturstoffen und einer großen Zahl künstlich erzeugter Verbindungen zugrunde.

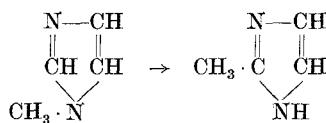
Eine variationsfähige Synthese für Imidazolderivate besteht in der Kondensation von 1,2-Dicarbonylverbindungen mit Ammoniak und einem Aldehyd:



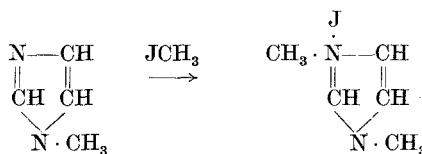
Benutzt man Glyoxal, Formaldehyd und Ammoniak, so bildet sich das Imidazol selbst; von dem hier zur Anwendung gelangenden Glyoxal stammt der zweite Name der Verbindung, Glyoxalin.

Die Imidazole unterscheiden sich von den Pyrrolen beträchtlich durch ihre größere Basizität. Sie sind einsäurige Basen und bilden mit Mineralsäuren wasserbeständige Salze. Andererseits kommen den am Stickstoff nicht substituierten Verbindungen gewissermaßen auch saure Eigenschaften zu, denn man kennt ein Imidazolkalium, in welchem an Stelle des Wasserstoffs Kalium an den Stickstoff getreten ist.

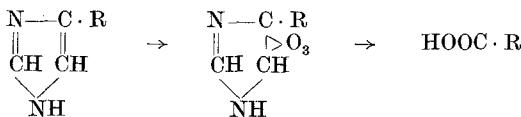
Imidazol und Imidazolkalium reagieren mit Halogenalkylen unter Bildung von N-Alkylimidazolen: lässt man diese durch eine glühende Röhre streichen, so lagern sie sich in 2-Alkyl-imidazole um:



Die N-Alkyl-imidazole sind weiterer Alkylierung zu einem quartären Salz fähig; die Anlagerung des Halogenalkyls erfolgt dabei stets an dem noch nicht alkylierten Stickstoffatom:



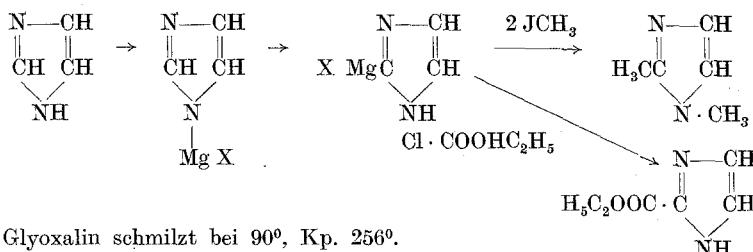
Reduktionsmittel greifen Glyoxaline nicht an; von oxydierenden Stoffen ist Chromsäure wirkungslos, Kaliumpermanganat führt völligen Abbau herbei, Ozon bewirkt Aufspaltung an der C-Doppelbindung:



Halogene substituieren sukzessive alle drei an den Kohlenstoffatomen haftenden Wasserstoffatome des Imidazols.

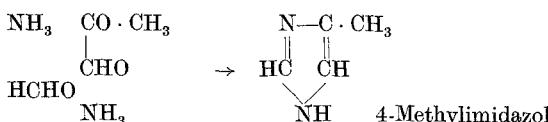
Bei der Einwirkung von $\text{C}_2\text{H}_5\text{MgBr}$ auf Imidazol entsteht unter Athenentwicklung Imidazolmagnesiumbromid, wobei das Mg wohl zuerst das am Stickstoff befindliche H-Atom substituiert und dann an

ein C-Atom wandert. Mit JCH_3 , Chlorameisensäureester usw. reagiert dieses Magnesiumderivat leicht:

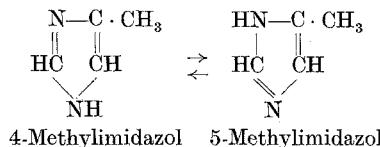


Glyoxalin schmilzt bei 90° , Kp. 256° .

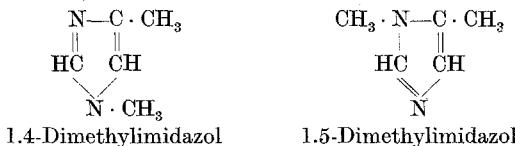
Eine interessante Bildungsweise des 4-Methyl-imidazols besteht in der Einwirkung von Zinkhydroxydammoniak auf Traubenzucker und ähnliche Kohlehydrate (*Windaus*). Hierbei werden die Zucker zunächst in Methylglyoxal, welches sich als Osazon abfangen läßt, und Formaldehyd aufgespalten, die hierauf mit Ammoniak in Reaktion treten:



Übrigens besteht zwischen 4-Methyl-imidazol und 5-Methyl-imidazol bzw. anderen in 4- bzw. 5-Stellung substituierten Glyoxalinen Tautomerie im Sinne der Formeln:



Man kennt nur eine Verbindung dieser Art, und bei der Alkylierung verhält sie sich wie eine Mischung der beiden Isomeren, indem dabei 1,4- und 1,5-Dimethyl-imidazol entstehen:

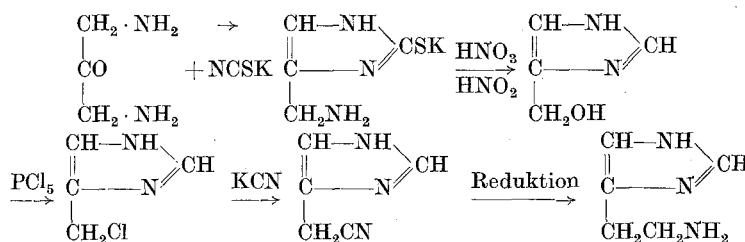


Histidin. Als wichtiges Imidazolderivat haben wir schon in früheren Abschnitten das Histidin, eine Aminosäure aus Eiweiß, kennengelernt.

Beim Erhitzen mit Mineralsäuren oder unter dem Einfluß von Fäulnisbakterien wird Histidin zu Histamin, d. h. β -Imidazolyl-äthylamin decarboxyliert; von der blutdrucksenkenden Wirkung dieser Base macht

die Medizin Gebrauch. Sie ist aus der Milz von Rindern und Pferden isoliert worden.

Histamin (Smp. 83°, Kp. 209—210°) ist auch synthetisch zugänglich: z. B. wird Diaminoaceton nach *Pyman* mit Rhodankalium zum 2-Mercapto-4-aminomethyl-glyoxalin kondensiert (in entsprechender Art lassen sich beliebige andere α -Aminoketone in Imidazolderivate verwandeln); Salpetersäure und salpetrige Säure erzeugen daraus 4-Oxymethyl-glyoxalin, das man über Chlorid und Nitril in β -Imidazolyl-äthylamin überführt:



Hercynin, das Betain des Histidins, ist in verschiedenen Pilzen gefunden worden.

Der Imidazolkern liegt auch mehreren Alkaloiden zugrunde, so dem Pilocarpin und seinen Verwandten, den Purinkörpern.

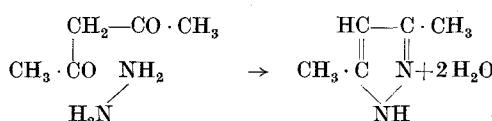
Über die Sauerstoffführenden Imidazolderivate Hydantoin (Glykolylharnstoff) und Parabansäure (Oxalylharnstoff) vgl. Später.

Pyrazol und Derivate. Das Pyrazol ist mit Imidazol isomer und unterscheidet sich von letzterem strukturell darin, daß seine beiden Stickstoffatome direkt unter sich verbunden sind. Der Name soll die Beziehung dieses heterocyclischen Ringsystems mit Pyrrol zum Ausdruck bringen, von dem sich Pyrazol durch Austausch einer CH-Gruppe gegen Stickstoff ableitet.

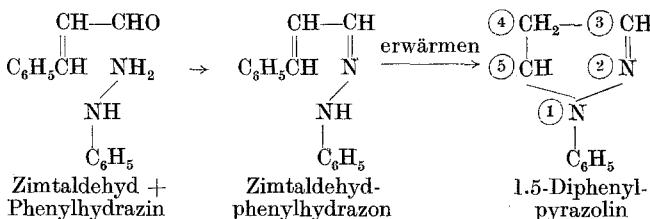
Die ganze, sehr stark entwickelte Pyrazolgruppe ist das Produkt synthetischer Arbeit. In der Natur kommt dieses Ringsystem nicht mit Sicherheit vor.

Die meisten Synthesen der Pyrazolkörper gehen von Hydrazin und dessen Derivaten oder von aliphatischen Diazoverbindungen aus:

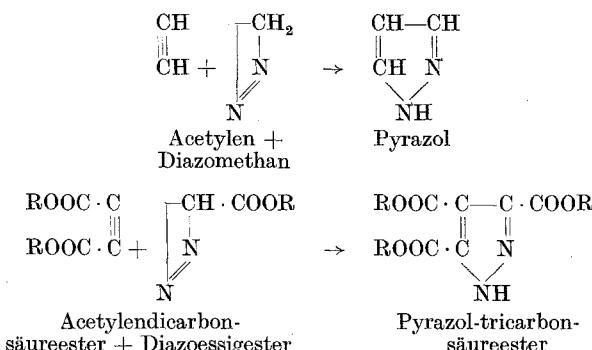
1. Hydrazin wird mit 1,3-Dicarbonylverbindungen (Diketonen, Aldehydketonen, Ketocarbonsäuren usw.) in Reaktion gebracht:



2. Man läßt Hydrazin oder dessen Derivate auf α,β -ungesättigte Aldehyde, Ketone oder Säuren einwirken:



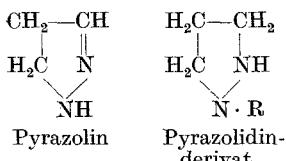
3. Diazomethan, Diazoessigester u. dgl. lagern sich an Acetylenverbindungen unter Bildung von Pyrazolderivaten an:



Pyrazole sind sehr beständige Verbindungen, die keine Neigung zur Verharzung oder Polymerisation erkennen lassen. Sie besitzen schwach basischen Charakter; ihre mineralsauren Salze dissoziieren schon im Vakuum und zerfallen in Wasser.

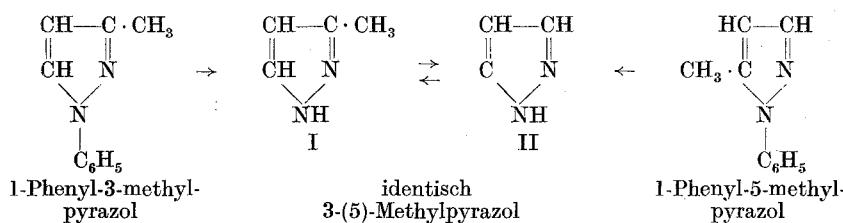
Gegen Permanganat ist der Pyrazolring beständig; durch Schwefelsäure wird er sulfuriert, durch Salpetersäureeinwirkung nitriert. 4-Aminopyrazol, das aus 4-Nitropyrazol bei der Reduktion entsteht, kann wie ein aromatisches Amin diazotiert werden, und die Diazoverbindung kuppielt in normaler Art. Der aromatische Charakter des Pyrazols ist somit sehr ausgeprägt.

Die Reduktion der Pyrazolverbindungen zu Pyrazolinen ist durch Natrium und Alkohol möglich, verläuft aber — wie diejenige des Benzols — nicht leicht. Daher wählt man zur Darstellung der Pyrazoline und ebenso zur Gewinnung der Pyrazolidine meist andere Methoden (s. z. B. oben Bildungsweise 2):



Beide hydrierten Verbindungsklassen haben stärkere basische Eigenschaften als Pyrazolderivate. Pyrazoline sind auch unbeständiger und werden von Oxydationsmitteln leicht angegriffen.

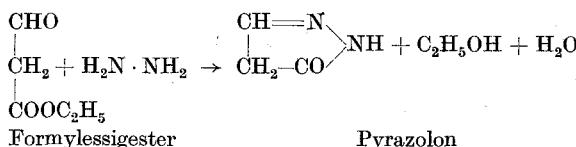
Über die Konstitution, speziell die Verteilung der Lückenbindungen im Pyrazolkern, liegen eingehende Untersuchungen von *Knorr*, *v. Auwers* und anderen vor. Aus diesen ergibt sich die Folgerung, daß die Doppelbindungen des Pyrazolkernes unter Umständen ihre Lage verschieben und, wie jene des Benzols (s. d.) und Imidazols (s. d.), „fließen“ können. Denn wenn man im 1-Phenyl-3-methyl-pyrazol und 1-Phenyl-5-methyl-pyrazol die Phenylreste durch Oxydation zerstört, so entsteht dasselbe C-Methylpyrazol, das demnach entweder als 3-Methyl- oder als 5-Methyl-pyrazol betrachtet werden kann. Diese beiden Formeln (I und II) kommen derselben Verbindung zu, die tautomer reagiert:



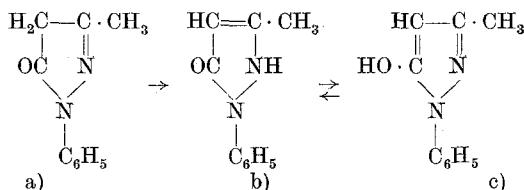
Immerhin scheint es, daß durch gewisse Substituenten an den C-Atomen des Pyrazolrings eine so weitgehende Stabilisierung des Moleküls erfolgt, daß von den beiden möglichen Isomeren die eine Form so stark überwiegt daß praktisch von einer definierten Struktur gesprochen werden kann; dies trifft z. B. für den 3-Phenyl-pyrazol-4-carbonsäuremethylester zu.

Ein außerordentlich eingehendes Studium ist gewissen Oxyderivaten des Pyrazolins, den Pyrazolonen, gewidmet worden. Den äußersten Anlaß dazu gab die zufällige, wichtige Entdeckung *Knorrs*, daß 1-Phenyl-2,3-dimethyl-5-pyrazolon (*Antipyrin*) ein sehr brauchbares Antipyreticum ist. Die Verbindungsgruppe wurde daher von *Knorr* und seiner Schule sowie von der Technik zunächst intensiv in dieser Richtung durchforscht. Später fand man, daß Pyrazolonderivate auch als Farbstoffe oder zu Farbstoffsynthesen brauchbar sind, und heute bilden sie vorzüglich ausgebauten, wichtige Farbstoffgruppen.

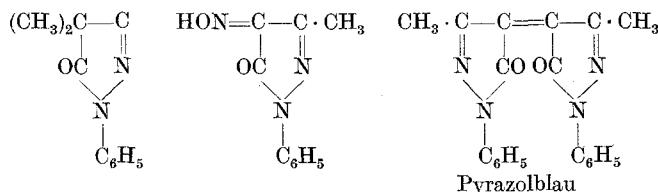
Die recht allgemein anwendbare Synthese der Pyrazolonverbindungen besteht in der Einwirkung von Hydrazin oder Hydrazinderivaten auf β -Ketocarbonsäureester; benutzt man an Stelle der letzteren Formylessigester, so wird das Grundglied, das einfachste Pyrazolon, selbst erhalten:



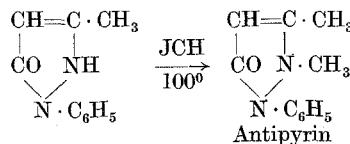
Auch beim Pyrazolon findet man Neigung zur Tautomerie. Die Substanz (z. B. ihr 1-Phenyl-3-methylderivat) vermag im Sinn der drei folgenden Formeln zu reagieren.



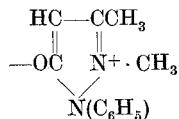
Von der ersten a) leiten sich 4-Dialkylderivate, Isonitrosoverbindungen, sowie ein Farbstoff vom Typus der Indogenide, das Pyrazolblau, ab:



Ein Derivat der zweiten Formel b) ist beispielsweise das *Antipyrin*, das aus 1-Phenyl-3-methyl-pyrazolon bei der Methylierung mittels Jodmethyl und Methylalkohol entsteht:

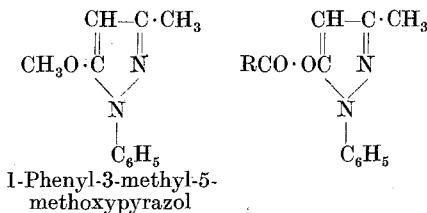


Für diese Verbindungen ist von Michaelis auch eine „Phenolbetain-Formel“



vorgeschlagen worden, welche z. B. die große Löslichkeit des Antipyrins in Wasser befriedigend erklärt (Salzcharakter).

Die dritte Formel c) liefert das Verständnis für die Existenz von O-Alkyl- und O-Acylverbindungen der Pyrazolone. So wird 1-Phenyl-3-methyl-pyrazolon wie ein Phenol durch Diazomethan in 1-Phenyl-3-methyl-5-methoxy-pyrazol, durch Säurechloride und Alkali in O-Acyl-derivate übergeführt:

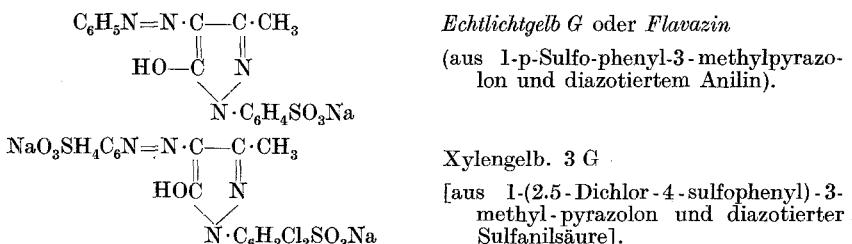


Antipyrin (Knorr 1884) (Formel und Darstellung vorstehend) ist eine in Wasser leicht lösliche, neutral reagierende Substanz mit bitterem Geschmack. Smp. 113°. Eisenchlorid erzeugt in der wässerigen Lösung Braunrotfärbung, die Verbindung besitzt als Antipyreticum große Bedeutung.

Salpetrige Säure wirkt auf Antipyrin unter Bildung eines grünen 4-Nitrosoderivates ein, das zum 4-Aminoantipyrin reduziert werden kann. Diese Base verhält sich ähnlich wie ein aromatisches Amin; sie lässt sich diazotieren, die Diazoverbindung kuppelt und tauscht bei „Sandmeyerschen Reaktionen“ ihren Diazoestest gegen andere Atomgruppen aus.

Durch Methylierung des 4-Aminoantipyrins ist das Pyramidon, N-Dimethylamino-antipyrin, ein therapeutisch wichtiger Stoff, dargestellt worden (Stolz). Es wirkt stärker und anhaltender antipyretisch als Antipyrin und besitzt gute antineuralgische Eigenschaften. Smp. 108°.

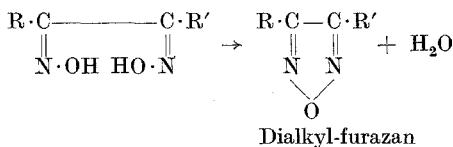
Pyrazolonfarbstoffe. Die meisten derselben gehören der Gruppe der **Azofarbstoffe** an und werden durch Kuppeln von Diazoniumsalzen mit 1-Phenyl-3-methyl-pyrazolon oder analogen Komponenten dargestellt. Wegen ihrer ausgezeichneten Lichtechtheit sind sie in neuerer Zeit zu erheblicher Bedeutung gelangt. Als Repräsentanten dieser Farbstoffklasse mögen Erwähnung finden:



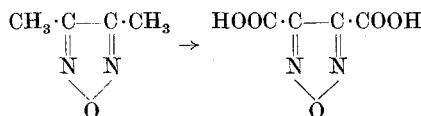
Über den Pyrazolonfarbstoff Tartrazin vgl. Farbstoffe.

B. Fünfgliedrige Heterocyclen mit drei und mehr Heteroatomen.

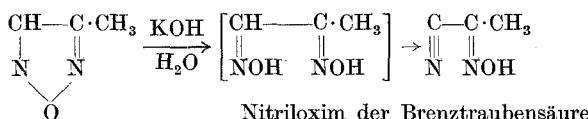
Furazane. Furazane können als Anhydride der $\alpha\alpha'$ -Dioxime aufgefaßt werden, aus welchen sie auch durch Abspaltung von Wasser (z. B. beim Erhitzen mit Ammoniak) hervorgehen:



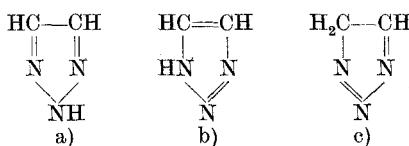
Der disubstituierte Furazanring zeichnet sich durch große Beständigkeit aus; selbst bei der Oxydation mittels Kaliumpermanganat bleibt er erhalten, und die Wirkung des Oxydationsmittels beschränkt sich auf den Abbau der Seitenketten. Aus Dimethylfurazan entsteht so die Dicarbonsäure:



Monoalkylierte Furazane erweisen sich der Spaltung leichter zugänglich; Alkalien verwandeln sie in Nitriloxime von Ketosäuren:

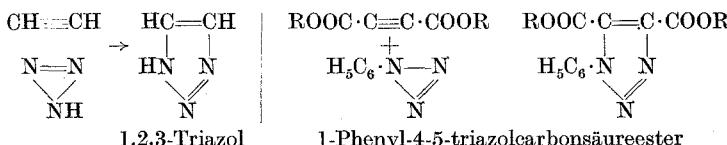


1.2.3-Triazole¹. Dem 1.2.3-Triazol kann man drei tautomere Formeln zuschreiben:



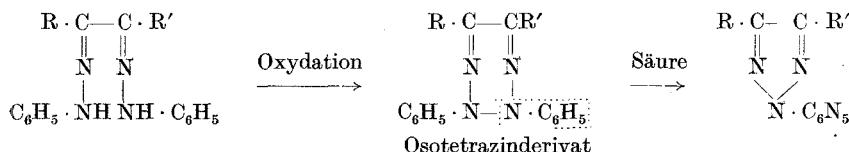
Zur Zeit kennt man nur solche Derivate des Stammkörpers, die sich von a) und b) ableiten.

Bildungsweisen für 1.2.3-Triazolverbindungen gibt es viele. Erwähnt sei als erste die Einwirkung von Stickstoffwasserstoffsäure oder ihren organischen Derivaten, den Aziden, auf Acetylenkörper:



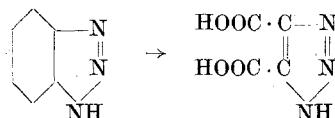
Ein zweites Darstellungsverfahren für 1.2.3-Triazole geht von den Phenylsazonen der 1.2-Dicarbonylverbindungen aus. Deren Oxydationsprodukte, die Osotetrazine, erleiden beim Kochen mit Säuren Ringverengerung und verwandeln sich — unter Abstoßung der Gruppe $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}$ — in Triazolderivate:

¹ Bladin, J. A.: Über Triazol und Tetrazolverbindungen.



Am längsten bekannt sind jene 1.2.3-Triazole, deren heterocyclischer Kern mit einem Benzolring orthokondensiert ist, die Azimide. Sie werden aus aromatischen ortho-Diaminen durch Einwirkung von salpetriger Säure dargestellt.

Bei der durchgreifenden Oxydation fällt der aromatische Kern der Azimide der Zerstörung anheim; die Triazolhälfte dagegen bleibt in Form der Dicarbonsäure erhalten:



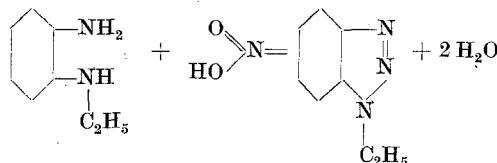
Schon daraus darf man den Schluß ziehen, daß das Ringsystem des 1.2.3-Triazols große Beständigkeit besitzt, was auch durch das übrige Verhalten dieser Verbindungen bestätigt wird. Nur gegen Reduktionsmittel sind sie empfindlicher. Die Triazole haben sehr schwach basischen Charakter; das am Stickstoff haftende Wasserstoffatom läßt sich durch Metalle ersetzen (ist also „sauer“). Die C-Aminoderivate sind der Diazotierbarkeit fähig. Wir finden also auch bei diesen heterocyclischen Basen die Verwandtschaft zu den aromatischen Körpern ausgeprägt.

1.2.3-Triazol siedet bei 203° (239 mm) und schmilzt bei 23°. Sein Geruch ist schwach aminartig. Es bildet Metallsalze (z. B. mit Silber, Quecksilber) sowie solche mit Mineralsäuren; letztere zerfallen in Wasser hydrolytisch.

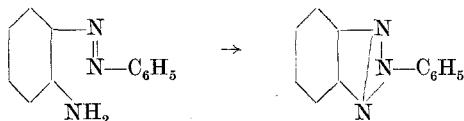
Für das Azimidobenzol oder Benzotriazol sieht die Theorie zwei desmotrope Formen voraus:



Von beiden sind Derivate bekanntgeworden. Die von a) sich ableitenden bilden sich auf völlig eindeutige Art aus N-Monoalkyl-(bzw. aryl)-o-diaminen des Benzols und salpetriger Säure:

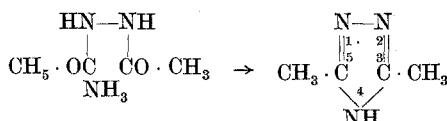


Abkömmlinge der tautomeren Form des Grundkörpers konnten aus o-Aminoazoverbindungen durch Oxydation (Chromsäure) erhalten werden:



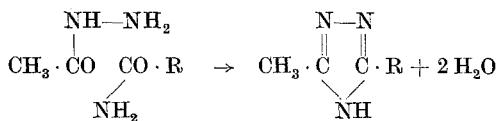
Benzo-1.2.3-triazol (Azimidobenzol) ist eine gut krystallisierende, farblose Verbindung, Smp. 100°, ebenso das Azimido-toluol, Smp. 83 bis 84°. Mit den anderen Azimiden teilen sie eine sehr große Beständigkeit gegen Säuren und Alkalien, gegen Oxydation und Reduktion. Ihr basischer Charakter ist äußerst schwach; dagegen bilden sie beständige Metallsalze.

1.2.4-Triazole (1.3.4-Triazole). Zur Gewinnung dieser Verbindungen dienen meistens *Hydrazinderivate*. Man erhält sie z. B. aus *Diacylhydrazinen beim Erhitzen mit Aminen oder Chlorzinkammoniak*:



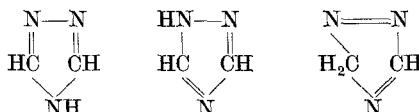
3.5-Dimethyl-1.2.4-triazol

ferner aus Monoacyl-hydrazinen durch Kondensation mit Säureamiden (*Pellizzari*):

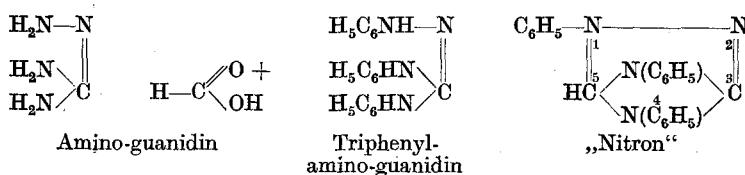


Die 1.2.4-Triazole gleichen den 1.2.3-Triazolen in der großen Beständigkeit und dem aromatischen Verhalten. Durch starke Oxydationsmittel können wohl am Triazolkern sitzende Seitenketten abgebaut werden, der heterocyclische Ring wird dabei nicht zerstört. Auch die 1.2.4-Triazole sind sehr schwache Basen; diejenigen, welche eine unsubstituierte NH-Gruppe enthalten, bilden Metallsalze.

Der Grundkörper, das 1.2.4-Triazol, ist eine farblose, geruchlose, krystallisierte Verbindung, Smp. 120—121°, Kp. 260°. Es kann, wie die isomere 1.2.3-Verbindung, in 3 tautomeren Formen geschrieben werden,

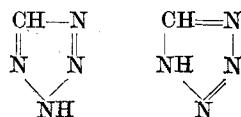


Aus der Gruppe des 1.2.4-Triazols, die gut durchforscht und ausgebaut ist, interessiert uns hier noch eine Verbindung ziemlich komplizierter Struktur, die in der analytischen Chemie unter dem Namen „Nitron“ zur Bestimmung von Nitrationen eine Rolle spielt. Sie entsteht aus Triphenyl-amino-guanidin beim Erhitzen mit Ameisensäure:



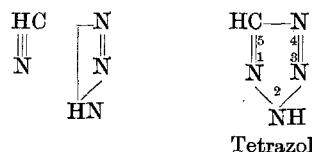
In dem Endprodukt der Reaktion führt von Stellung 3 des Triazolkerns nach 5 eine phenylierte Stickstoffbrücke; daher bezeichnet man einen derartigen Körper als „endo-imino“-Verbindung, und zwar ist die vorliegende, das Nitron selbst, 1.4-Diphenyl-end-anilo-dihydrotriazol oder 1.4-Diphenylend-anilo-triazolin zu benennen (abgekürzt: 1.4-Diphenyl-danilo-dihydrotriazol). Es bildet gelbe Blättchen, schmilzt bei 189°. Sein Acetat ist in Wasser leicht löslich, das Nitrat dagegen praktisch unlöslich. Darauf ist die Verwendung des Nitrons zur quantitativen Nitrationenbestimmung begründet, die man in essigsaurer Lösung ausführt.

Tetrazol. Das Tetrazol besitzt einen Ring, der aus 4 Stickstoff- und einem Kohlenstoffatom gebildet wird. Es reagiert tautomer:

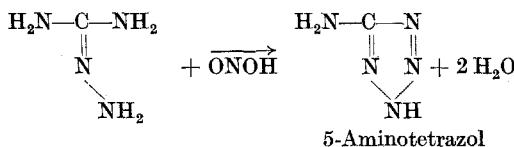


Von beiden Formen leiten sich N-Alkyl- bzw. A-Aryl-derivate ab.

Eine größere Zahl von Umsetzungen eignet sich für die Darstellung von Tetrazolverbindungen. Der Stammkörper, das Tetrazol selbst, wird z. B. beim längeren Erhitzen von Stickstoffwasserstoffsäure und wasserfreier Blausäure gebildet:

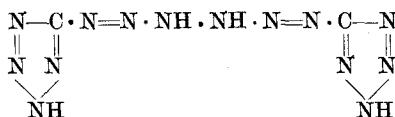


Zum gut untersuchten 5-Aminotetrazol führt unter anderem die Einwirkung von salpetriger Säure auf Aminoguanidin:



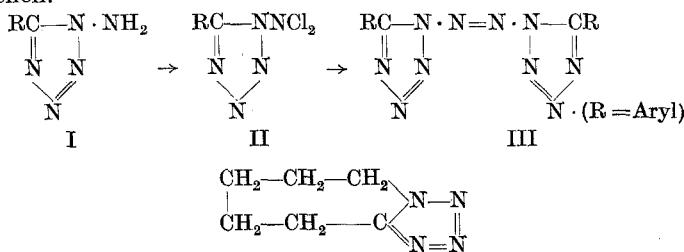
Tetrazol (Smp. 155°, farblose Krystalle) und seine am Stickstoff nicht substituierten Derivate reagieren in Wasser sauer; sie liefern beständige Metallsalze (z. B. des Silbers, der Alkalien). Die meisten Tetrazolkörper besitzen bemerkenswerte Stabilität. Ihr aromatischer Charakter kommt u. a. in der Eigenschaft des 5-Amino-tetrazols, sich normal diazotieren zu lassen, zum Ausdruck. Dieses Diazoniumsalz besitzt Kupplungsfähigkeit und eignet sich zu den meisten, für Diazoniumsalze charakteristischen Reaktionen, z. B. der Reduktion zum 5-Hydrazino-tetrazol.

Wegen seines außerordentlich hohen Stickstoffgehaltes verdient auch ein Produkt Beachtung, das aus diaziertem 5-Amino-tetrazol durch Kuppeln mit Hydrazin gewonnen worden ist:



Neben 10,7% Kohlenstoff enthält es nicht weniger als 87,5% Stickstoff und ist damit die stickstoffreichste bekannte organische Verbindung.

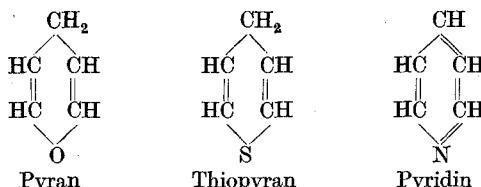
Auch 1-Aminotetrazolderivate (I) sind bekannt; sie lassen sich mit HOCl in äußerst explosive Dichloroderivate (II) überführen, die durch KJ in die Azoverbindungen III mit 10 aneinandergeketteten-N-Atomen übergehen.



Im Pentamethylentetrazol konnte eine Verbindung von pharmakologischem Interesse gefunden werden. Sie ist ein zentral angreifendes Excitans und dient unter der Bezeichnung Cardiazol als wasserlösliches Campherersatzpräparat.

Sechsgliedrige Heterocyclen mit einem Heteroatom.

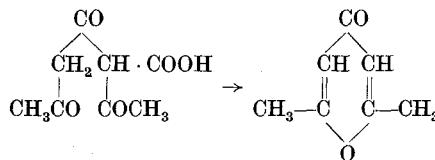
Beim Ersatz einer CH-Gruppe im sechsgliedrigen Benzolkern durch ein „Heteroatom“, durch Sauerstoff, Schwefel oder Stickstoff, gelangen wir zu Ringsystemen folgender Art:



Von diesen kennt man Pyran und Thiopyran bisher nur in Derivaten. Die wichtigeren unter ihnen, die Pyrone, Xanthone und Pyryliumfarbstoffe (Anthocyane) sind uns schon in früheren Kapiteln begegnet, wo sie infolge ihrer engen Beziehungen zu rein aromatischen Verbindungen bereits besprochen wurden. An dieser Stelle haben wir uns daher hauptsächlich mit dem Pyridin und seinen zahlreichen Abkömmlingen zu befassen. Diesen mögen aber noch einige einfach gebaute Pyranverbindungen vorangestellt werden, da sie uns über die Valenzverteilung innerhalb dieses Ringsystems interessante Aufschlüsse zu geben vermögen.

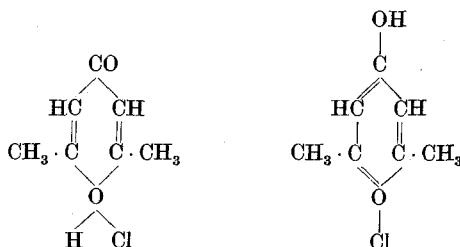
Pyranderivate.

Eine der bestuntersuchten einfachen Pyranverbindungen ist das 2.6-Dimethyl-pyron, das durch mehrere Synthesen, z. B. durch Kochen von „Dehydracetsäure“ (a, Diacetyl-acetessigsäure) mit Salzsäure, zugänglich ist:

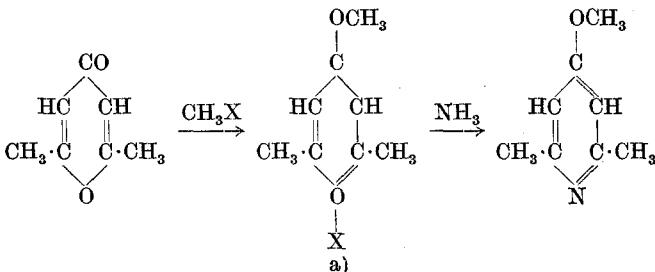


Die Verbindung hat wegen ihrer Fähigkeit, mit Säuren gut krystallisierende Salze zu bilden, schon vor 30 Jahren die Aufmerksamkeit auf sich gelenkt (*Collie* und *Tickle*). Sie kann als Prototyp jener zahlreichen Sauerstoffverbindungen angesehen werden, in welchen dem Sauerstoff basische Eigenschaften zukommen, und die daher zur Bildung von „Oxoniumsalzen“ befähigt sind.

Daß der Sauerstoff in Oxoniumsalzen vierwertig, oder besser gesagt, koordinativ dreiwertig aufgefaßt werden muß, ist entwickelt worden. Für die Salze des 2.6-Dimethylpyronsfallen ernstlich nur die beiden folgenden Formulierungen in Betracht:

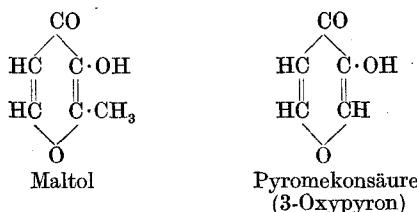


Von diesen hat die zweite die größere Wahrscheinlichkeit für sich. An das Dimethylpyron lassen sich nämlich Alkylierungsmittel (Dimethylsulfat, Jodmethyl) anlagern (*Kehrmann*); dabei entstehen Salze einer starken Base, die etwa mit den quaternären Ammoniumsalzen vergleichbar sind. Zur Beurteilung ihrer Konstitution ist ihre Umsetzung mit Ammoniak wichtig, die in glatter Reaktion 2,6-Dimethyl-4-methoxy-pyridin ergibt (*v. Baeyer*). Hieraus darf für die Salze des methylierten Pyrons auf Formel a geschlossen werden:



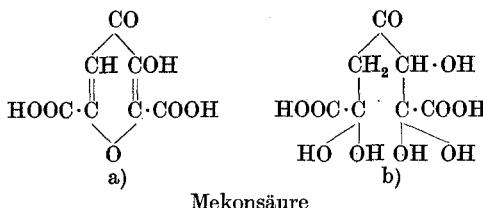
2,6-Dimethylpyron schmilzt bei 131° , Kp. 248° (713 mm). In Wasser löst es sich leicht und mit neutraler Reaktion; seine mineralsauren Salze dagegen reagieren in Wasser infolge hydrolytischer Dissoziation stark sauer. Die Neigung zum Eingehen von Additionsverbindungen erstreckt sich bei diesen Pyronverbindungen auch auf viele Mineralsalze (z. B. HgCl_2 , CuCl_2 , ZnCl_2 , CoCl_2 usw.), mit denen sie zu gut krystallisierten Verbindungen zusammentreten.

Maltol nennt man ein einfaches Pyronderivat, das 2-Methyl-3-oxy-pyron, das wiederholt in Naturprodukten aufgefunden wurde:



Es ist in den Tannennadeln, in der Rinde der Lärchen vorhanden, entsteht ferner in kleiner Menge bei der trockenen Destillation von Holz und Cellulose, beim Rösten von Malz u. dgl. Charakteristisch ist seine violette Eisenchloridreaktion (benachbarter Carbonyl- und saure Hydroxylgruppe!); Smp. 160°.

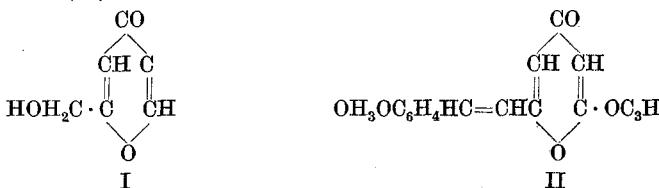
Das niedrigere Homologe des Maltols liegt in der Pyromekonsäure vor, die durch Destillation von Mekonsäure erhalten wird. Mekonsäure tritt, an Alkaloide des Mohns gebunden, im Opium auf. Neben der cyclischen Formel a) wird für sie auch eine offene b) in Betracht gezogen, die ihrem Trihydrat zukäme:



Die Säure färbt sich mit Eisenchlorid tiefrot.

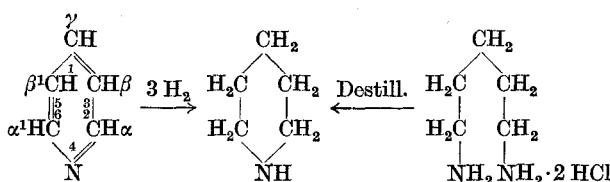
Durch Züchtung verschiedener Bakterien auf Kohlehydratlösungen (z. B. solchen von Glucose, Maltose, Rohrzucker, Fructose, Inulin, aber auch Dulcit, Glycerin usw.) wird ein einfach gebautes γ -Pyronderivat gebildet, die sog. Kojisäure (I). Sie ließ sich auch auf rein chemischem Wege aus Traubenzucker darstellen.

Auch das Yangonin aus der Kawawurzel gab sich als ein γ -Pyronderivat zu erkennen (II).



Pyridin und dessen Derivate¹.

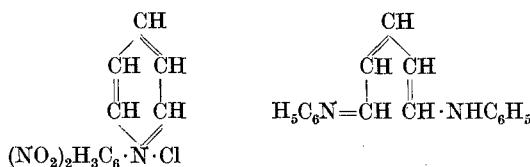
Pyridin ist eine tertiäre, schwache Base, deren Molekül aus 5 CH-Gruppen und einem Stickstoffatom besteht, welche in einem Sechsring vereinigt sind. Diese Konstitution folgt einerseits daraus, daß sich Pyridin durch Anlagerung von 6 Atomen Wasserstoff leicht zu Piperidin, welches in durchsichtiger Reaktion (Destillation des salzauren Salzes des Pentamethylendiamins) zugänglich ist, reduziert läßt:



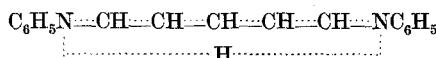
Andererseits sprechen für diese Formel Aufspaltungen des Pyridinringes zu einfachen aliphatischen Verbindungen. Eine solche erfolgt z. B. bei der Behandlung des Anlagerungsproduktes von Dinitrochlorbenzol an Pyridin mit Anilin, wobei in eigenartiger Reaktion das Anilid

¹ Vgl. dazu: Calm. v. Buchka: Die Chemie des Pyridins und seiner Derivate, 1889/91. — Moureu, Ch.: Etude théorique sur les composés pyridiques et hydro-pyridiques. — Maier-Bode, Hans u. Julius Altpeter: Das Pyridin und seine Derivate in Wissenschaft und Technik. Halle 1934.

des Glutaconaldehyds ($\text{OCH} \cdot \text{CH} = \text{CH} \cdot \text{CH} = \text{CHOH} \rightleftharpoons \text{OCH} \cdot \text{CH} = \text{CH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CHO}$), ein sog. *Polymethinfarbstoff*, gebildet wird:



In solchen „*Polymethinfarbstoffen*“ scheint im Sinn der Formel

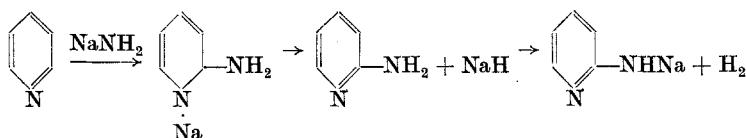


ein System fließender heteropolarer Bindungen aufzutreten. Denn wenn man an Stelle der C_6H_5 -Reste optisch aktive Gruppen (d und l) einsetzt, so treten inaktive Mesoformen auf. Macht man die beiden Reste verschieden und vertauscht sie in ihren Plätzen, so werden identische Produkte erhalten (*W. König*).

Pyridin hat *Anderson* im Knochenteer, dem Destillat von Knochen, entdeckt (1849) wo es sich zusammen mit höheren Homologen und verschiedenen Pyrrolkörpern findet. In größerer Menge kommt es im Steinkohlenteer vor und wird aus diesem technisch gewonnen.

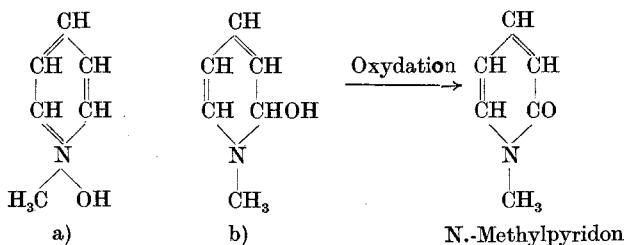
Die Base bildet farblose, mit Wasser mischbare Flüssigkeit von charakteristischem, etwas scharfem Geruch; Kp. 115° , Smp. 38° . Sie zeigt ausgesprochen „aromatischen“ Charakter, lässt sich zur β -Pyridinsulfinsäure sulfurieren und unter Anwendung sehr energischer Bedingungen (etwa 300°) nitrieren, wobei die Nitrogruppe ebenfalls in β -Stellung tritt. β Nitropyridin (Smp. 41°) liefert bei der Reduktion β -Aminopyridin, das in normaler Weise diazotiert werden kann. Die beiden isomeren Aminopyridine, die α - und die γ -Verbindung, verhalten sich gegen salpetrige Säure anders; in verdünnt mineralsaurer Lösung ist ihre Diazotierung unvollkommen, in starker halogenwasserstoffsaurer Lösung tritt unter Stickstoffentwicklung Ersatz der primär gebildeten Diazoniumsalzgruppe durch Halogen ein.

Die relative Schwerzugänglichkeit der Nitropyridine hat Versuche wachgerufen, Aminopyridine auf anderen Wegen zu erzeugen. Ihre Darstellung ist aus Chlorpyridinen durch Erhitzen mit Chlorzinkammoniak oder Brompyridin, NH_3 und Kupfersalzen oder durch Abbau der Pyridincarbonsäureacide bzw. -amide möglich; besonders häufig wird aber in neuerer Zeit die direkte Aminierung des Pyridins und seiner Derivate ausgeführt, die nach *Tschitschibabin* durch Erhitzen mit Natriumamid gelingt. Aus Pyridin und Natriumamid bilden sich z. B. 2-Amino- und 2,6-Diaminopyridin. Der Mechanismus dieser Reaktion ist wahrscheinlich folgender:



2.4-Diaminopyridin liefert beim Kuppeln mit Diazoniumsalzen stark bactericid wirkende Azofarbstoffe (Pyridium A); auch aus 2.6-Diaminopyridin werden analoge Azofarbstoffe erhalten („Pyridium“).

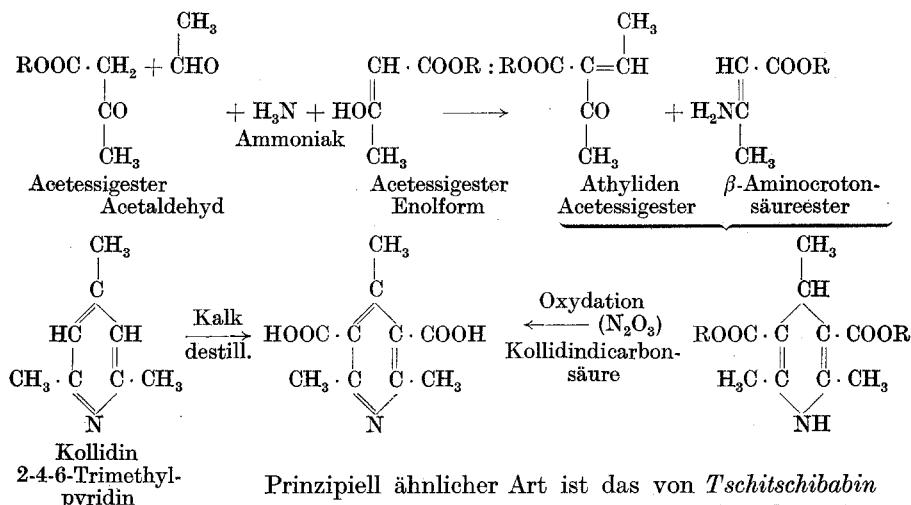
Als tertiäres Amin lagert Pyridin leicht Halogenalkyle, Dialkylsulfat und ähnliche Alkylierungsmittel an. Die quartären Pyridiniumsalze zeigen meist ausgezeichnete Krystallisationsfähigkeit. Den ihnen zugrunde liegenden quartären Basen, die bei der Einwirkung von Alkalien entstehen, kommt die Fähigkeit zu, desmotrop, im Sinn der nachstehenden Formeln zu reagieren. Für die Existenz der Carbinolform (b spricht namentlich der Umstand, daß diese Basen durch geeignete Oxydation (Kaliumferricyanid oder elektrolytische Oxydation) zu N-Alkyl-pyridonen oxydiert werden können (Decker):



Durch die Alkylierung verliert der Pyridinring an Beständigkeit und wird verschiedenen Aufspaltungen leichter zugänglich. Vgl. z. B. die oben erwähnte Überführung in das Anilid des Glutaconaldehyds.

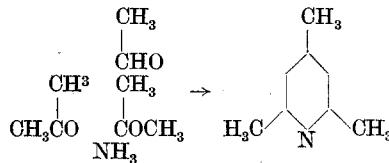
Pyridin spielt wegen seines ausgezeichneten Lösungsvermögens für viele anorganische Salze und organische Stoffe als Lösungsmittel eine bedeutende Rolle. Neuerdings dient es häufig als halogenwasserstoff-bindendes Mittel bei Acylierungen mittels Säurehalogeniden. Rohpyridin wird zur Spiritusdenaturierung gebraucht, gelegentlich auch zur Vertilgung von Pflanzenschädlingen.

Für die Gewinnung von Pyridinhomologen stehen verschiedene synthetische Methoden zur Verfügung. Besonders fruchtbar hat sich eine Synthese erwiesen, die auf der Kondensation von 2 Mol. β -Ketonsäureester mit 1 Mol. eines Aldehyds und 1 Mol. Ammoniak beruht (Hantzsch). Sie verläuft wahrscheinlich in folgender Art:

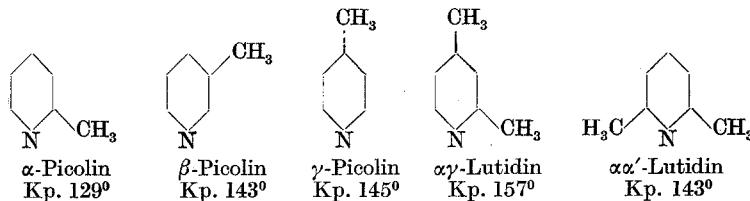


Kollidin
2-4-6-Trimethyl-
pyridin

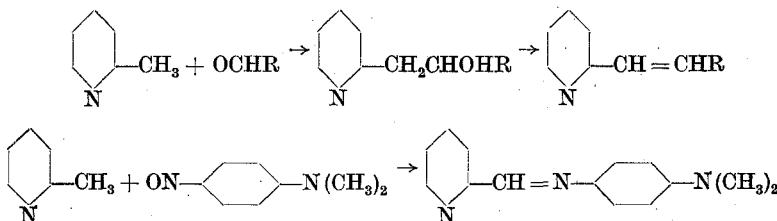
Prinzipiell ähnlicher Art ist das von *Tschitschibabin* häufig verwendete Verfahren, das in der Kondensation von Aldehyden (und Ketonen) mit Ammoniak bei Gegenwart von Aluminiumoxyd als Kontaktsubstanz besteht:



Als Quelle für Mono- und Dimethylpyridine kommen vornehmlich der Steinkohlen- und Knochenleer in Betracht; doch ist die Trennung dieser Pyridinkörper keine leichte Aufgabe. Die Mischung findet zur Denaturierung von Spiritus praktisch Verwendung. Die Monomethylpyridine führen die Bezeichnung Picoline, die Dimethylpyridine werden Lutidine genannt:



Besondere Erwähnung verdient die Reaktionsfähigkeit der in α - und γ -Stellung stehenden Methylgruppen, die darin zum Ausdruck kommt, daß ihre Wasserstoffatome, ähnlich wie die der Methylengruppe des Acetessigesters, mit Aldehyden und Nitrosoverbindungen reagieren; dem β -ständigen Methyl geht diese Eigenschaft ab:

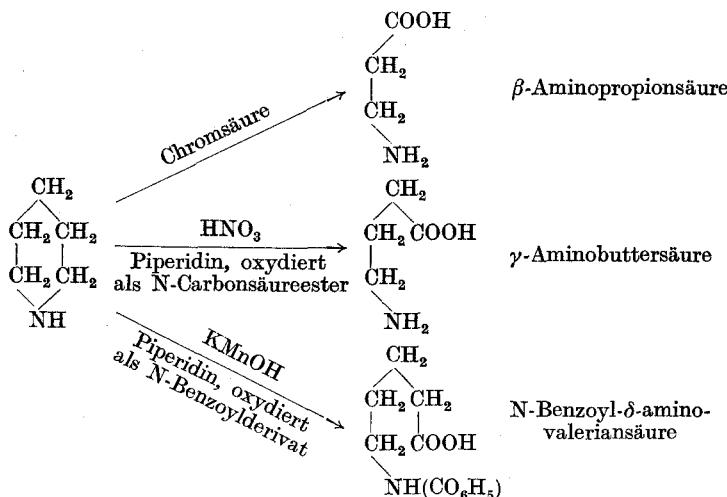


Für den präparativen Ausbau der Pyridinklasse hat die Kondensation der α - bzw. β -Methyl-pyridine mit Aldehyden wertvolle Dienste geleistet, gestattet sie doch die Angliederung längerer Seitenketten an den Pyridinkern (vgl. z. B. Synthese des Coniins).

Pyridinderivate mit reduziertem Pyridinkern sind in großer Zahl bekannt; die wichtigsten und bestuntersuchten sind die Hexahydroverbindungen, Piperidin und seine Abkömmlinge. Unter ihnen findet man zahlreiche Naturstoffe (Coniin, Conhydrin, Piperin, Nicotin, Tropin, Cocain u. a.), die im Abschnitt „Alkaloide“ besprochen werden.

Piperidin und seine einfacheren Derivate lassen sich meistens aus den entsprechenden Pyridinbasen durch Reduktion darstellen. Als Reduktionsmittel eignen sich Natrium und Alkohol oder katalytisch angeregter Wasserstoff. Daneben sind auch mehrere Verfahren bekannt, um aliphatische Amine direkt in Piperidinverbindungen zu cyclisieren; vgl. z. B. die Überführung von Pentamethyldiamin in Piperidin.

Piperidin ist eine starke Base, von ähnlichem Geruch wie die mittleren aliphatischen Amine, in Wasser in jedem Verhältnis löslich; Kp. 106° (757 mm), Smp. 13°. — Gegen Oxydationsmittel erweist es sich in der Kälte recht beständig, wird aber in der Hitze langsam angegriffen. Hierbei findet je nach den Bedingungen der Oxydation Abbau zu verschiedenen Aminosäuren statt:

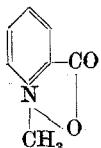


Als sekundäres Amin bildet Piperidin ein Nitrosamin, N-Alkyl- sowie N-Acylderivate. Es hat sich zur Unterstützung von Kondensationsreaktionen sehr brauchbar erwiesen und findet für solche Zwecke häufig Anwendung.

Die hexahydrierten Methyl-pyridine werden Pipecoline (α , β , γ) genannt.

Auf Carbonsäuren der Pyridinreihe mit 1, 2 und selbst 3 Carboxylgruppen ist man häufig durch oxydativen Abbau von Alkaloiden und Chinolinverbindungen gestoßen; sie haben bei deren Konstitutionsaufklärung eine wichtige Rolle gespielt. Über ihre Namen und Herkunft orientiert nachstehende Zusammenstellung:

Picolinsäure	α -Pyridincarbonsäure
Nicotinsäure	β -Pyridincarbonsäure
Isonicotinsäure	γ -Pyridincarbonsäure
Cholininsäure	α, β -Pyridincarbonsäure
Cinchomeronsäure	β, γ -Pyridindicarbonsäure
Lutidinsäure	α, γ -Pyridindicarbonsäure
Berberonsäure	$\alpha\beta\gamma$ -Pyridintricarbonsäure
α -Carbocinchomeronsäure	α, β, γ -Pyridintricarbonsäure



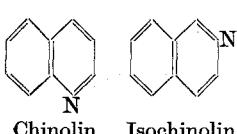
Pyridin-carbonsäure-diäthylamid ist unter der Bezeichnung Coramin als wichtiges, wasserlösliches Campherersatzpräparat im Handel.

Im Muskel des Hummers (*Homar homerus*) und dem Extrakt der Archenmuschel (*Arca noae*) findet sich die Base Homarin. Sie ist Picolinsäure-methylbetain. Bei mehrstündigem Erhitzen mit konzentrierter Salzsäure auf 200° entsteht aus ihr Picolinsäure.

Auch hydrierte Pyridincarbonsäuren stehen zu Pflanzenbasen in naher Beziehung. Das Alkaloid Arecaidin (s. d.) ist eine N-Methyltetrahydronicotinsäure, eine optisch aktive Piperidin- β, γ -dicarbonsäure liegt in der Loiponsäure, einem Abbauprodukt der Chinaalkaloide, vor, und die Piperidin- α, α' -dicarbonsäure tritt als ein Spaltungsprodukt des Alkaloids Scopolamin (s. d.) auf und führt davon die Bezeichnung Scopolinsäure.

Chinolinverbindungen.

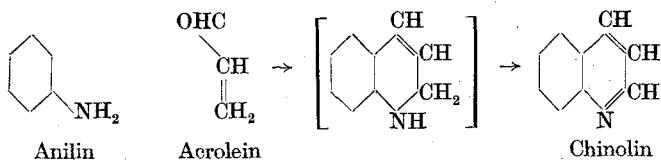
Der Pyridinkern kann mit dem Benzolring in zweierlei Weise ortho-kondensiert werden; die beiden Typen sind im Chinolin und Isochinolin verwirklicht:



Von beiden Grundkörpern leiten sich überaus zahlreiche Derivate ab, von denen uns einige bereits unter den organischen Farbstoffen begegneten und viele andere im Kapitel über Alkalioide zu besprechen sein werden.

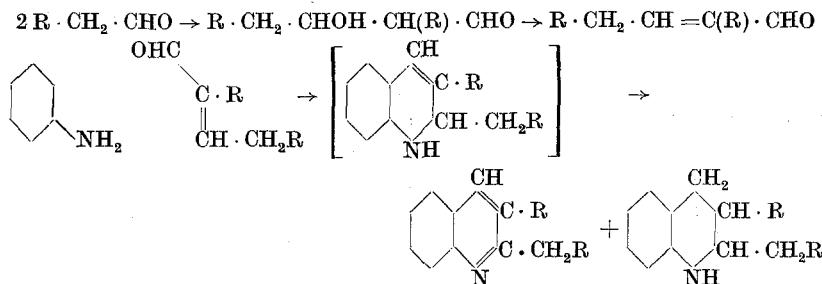
Unter der weiteren Anwendungsfähigen Chinolinsynthesen haben wir drei zu erwähnen:

1. Die Synthese von *Skraup*. Sie besteht darin, daß man ein aromatisches Amin mit freier ortho-Stellung zusammen mit Glycerin, Schwefelsäure und einem aromatischen Nitrokörper (meist demjenigen, der dem angewandten Amin entspricht) erhitzt. Die Schwefelsäure erzeugt aus Glycerin durch Wasserentzug Acrolein (s. d.), welches sich hierauf mit dem Amin zu einem Dihydrochinolinkörper vereinigt; durch die zugesetzte Nitroverbindung wird dieser schließlich zum Chinolin dehydriert:



Die Ausbeuten an Chinolinverbindungen lassen sich bei der *Skraup*-schen Synthese durch Oxydationskatalysatoren (z. B. Vanadinsäure) oder Dehydratisierungskatalysatoren (Al_2O_3 , ThO_2) erhöhen.

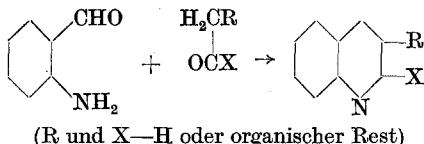
2. Die *Döbner-v. Millersche* Synthese. Ein aromatisches Amin wird mit 2 Mol. eines Aldehyds und konzentrierter Salzsäure erhitzt. Die beiden Aldehydmoleküle verbinden sich dabei wahrscheinlich zunächst nach Art einer Aldolkondensation zu einem β -Oxyaldehyd, der unter Wasserverlust in einen α -, β -ungesättigten Aldehyd übergeht. Dieser tritt hierauf, wie bei der *Skraupschen* Synthese das Acrolein, mit dem aromatischen Amin in Reaktion. Das Kondensationsprodukt ist ein Dihydrochinolinderivat, das sich schließlich in Tetrahydrochinolinkörper und Chinolinverbindung disproportioniert:



Die *Skraupsche Synthese* erscheint bei dieser Auffassung des Reaktionsverlaufes als ein Spezialfall der *Döbner-v. Millerschen*. Es ist offensichtlich, daß die letztere sich nur für die Synthese von Chinolinhomologen, nicht zur Darstellung des Chinolins selbst eignen kann.

3. Die Synthese von *P. Friedländer*. Sie besteht in der Kondensation von ortho-Aminobenzaldehyd mit Aldehyden oder Ketonen, die zum

Carbonyl benachbart eine CH₂-Gruppe besitzen: —CH₂·CO—. Der Umsatz vollzieht sich in alkalischer Lösung; das Anwendungsgebiet dieser Reaktion ist ebenfalls recht allgemein:

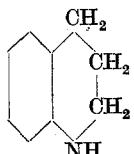


(R und X—H oder organischer Rest)

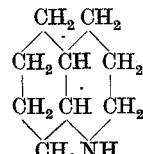
Chinolin findet sich neben Homologen im Steinkohlenteer und wird aus ihm, außerdem aber synthetisch, dargestellt. Es ist eine schwache, tertiäre Base, von scharfem, charakteristischem Geruch, in Wasser fast unlöslich; Kp. 238°, Smp. —22,6°. Neuerdings konnte sie neben 2-Methylchinolin, 2-n-Amylchinolin und 1-Methyl-2-keto-1,2-dihydro-chinolin in der Angosturarinde nachgewiesen werden.

Über die Konstitution des Chinolins lassen die besprochenen Synthesen keinen Zweifel. Die Oxydation mittels Kaliumpermanganat liefert unter Zerstörung des Benzolkerns Pyridin-a,β-dicarbonsäure (Chinolinsäure) (s. nebenstehende Formel).

Die Reduktion der Base ist Gegenstand vieler Untersuchungen gewesen. Zunächst erfolgt die Hydrierung der Pyridinhälfte, gleichgültig, ob mit Natrium und Alkohol, Zinn und Salzsäure oder mit aktiviertem Wasserstoff gearbeitet wird. Das Reduktionsprodukt ist das Tetrahydrochinolin, eine starke, sekundäre Base, Kp. 248°, die mit Piperidin viel Ähnlichkeit zeigt. — Durch weitergehende Hydrierung, z. B. mit Wasserstoff bei Gegenwart von Nickel oder Palladium, lässt sich auch noch die Benzolhälfte des Chinolinmoleküls mit Wasserstoff sättigen. Das Decahydrochinolin besitzt ganz den Charakter eines aliphatischen sekundären Amins, den charakteristischen Geruch, bedeutende Basizität; es kristallisiert gut; Smp. 48°, Kp.₇₁₄ 204° (korrig.). Seine beiden asymmetrischen Kohlenstoffatome bedingen die Existenz von optischen Isomeren; solche sind durch Spaltung der Base erhalten worden ($[\alpha] D = \pm 4 \cdot 5^{\circ}$ in Alkohol):



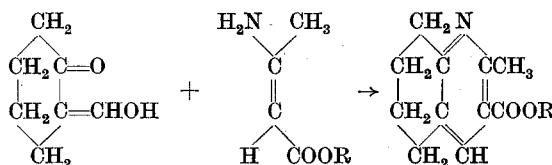
Tetrahydrochinolin



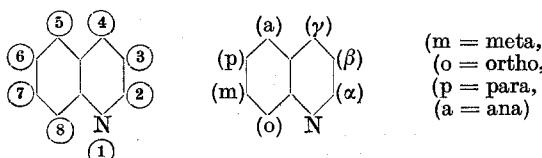
Decahydrochinolin

Bei der Dehydrierung der Deca-hydrochinoline mit Platin bei höherer Temperatur (bis 300°) wurde die Bildung von Bz-Tetrahydro-

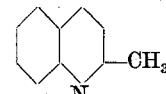
chinolin beobachtet, d. h. des im Benzolkern tetrahydrierten Chinolinderivates. Einfacher lassen sich Bz-Tetrahydrochinoline durch Kondensation von β -Amino-crotonsäureester mit Oxymethylen-cyclohexan-2-on gewinnen.



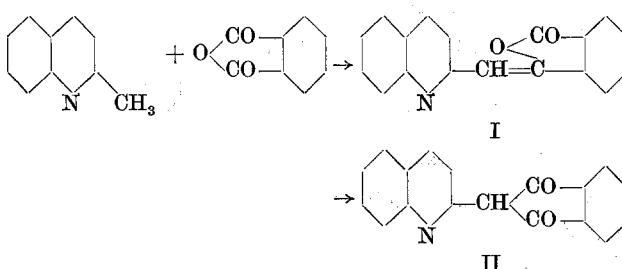
Chinolinhomologe können nach den oben erläuterten synthetischen Methoden dargestellt werden, und zwar sowohl solche, deren Seitenketten in der Pyridinhälfte stehen als auch jene, die einen substituierten Benzolkern besitzen. Die Bezeichnung der verschiedenen Stellungen im Chinolinmolekül geschieht entweder durch Zahlen oder griechische und Antiquabuchstaben:



α -Methyl-chinolin oder Chinaldin (Kp. 246—248°, 755 mm), nach Döbner-v. Millerschen Reaktion aus Anilin und Acetaldehyd sehr leicht zugänglich, ist eine der bestuntersuchten Chinolinverbindungen. Die Wasserstoffatome des α -ständigen Methyls sind wie jene des entsprechenden Pyridinderivates reaktionsfähig, worauf das Kondensationsvermögen des Chinaldins mit Aldehyden und ähnlichen Körpern zurückgeht.



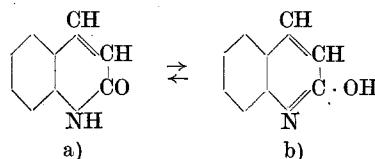
Eine Verbindung dieser Art, die als Farbstoff praktische Anwendung findet, liegt im Chinolingelb vor; aus Chinaldin, Phtalsäureanhydrid und Chlorzink entsteht eine Mischung von I und II, in welcher sich durch stärkeres Erhitzen II auf Kosten von I anreichert. Dessen Disulfosäure bildet als Natriumsalz das lichte, gelb färbende „Chinolingelb löslich“.



γ -Methyl-chinolin, Lepidin (Kp. 258—260°, 742 mm) wurde zuerst als Zersetzungspunkt von Chinaalkaloiden beobachtet. Auch sein Methyl hat bewegliche Wasserstoffatome; beispielsweise lassen sie sich mittels Natriumamid durch Natrium ersetzen. (Diejenigen im Chinolin verhalten sich ebenso.)

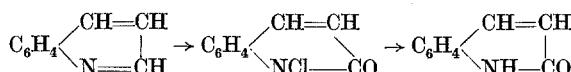
Methylderivate des Chinolins (z. B. 2.3-Dimethyl-, 2.4-Dimethyl-, 2.8-Dimethyl- und 2.4.8-Trimethyl-Chinolin) sind aus kalifornischem Erdöl isoliert worden.

Aus der Gruppe der Oxychinoline möge das α -Oxychinolin oder Carbostyrol (Smp. 200°) Erwähnung finden, eine Verbindung, die bei der Untersuchung des Tautomerieproblems eine nicht unbedeutende Rolle gespielt hat. Es reagiert desmotrop im Sinn der Formeln:



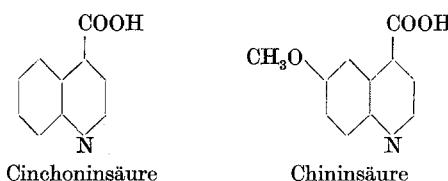
Von beiden leiten sich Alkylderivate ab. Eine Mischung von N-Athyl-carbostyrol mit Carbostyrol-O-äthyläther entsteht bei der Einwirkung von Jodäthyl und Alkali auf α -Oxy-chinolin; den Sauerstoffäther allein gewinnt man aus Carbostyrol-silber mit Athyljodid.

Für das Carbostyrol selbst besteht eine befriedigende Darstellungsweise in der Oxydation von Chinolin mit Chlorkalklösung; die Reaktion scheint über das N-Chlor- α -chinolon zu verlaufen.



Mit 80% Ausbeute erhält man Carbostyrol nach *Tschitschobabin*, wenn man auf Chinolin bei 225° Baryumoxyd einwirken lässt.

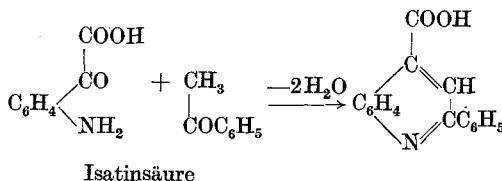
Unter den Chinolincarbonsäuren sind die Cinchoninsäure, Chinolin- γ -carbonsäure, sowie ihr p-Methoxyderivat, die Chininsäure, wegen ihrer nahen Beziehungen zu den Alkaloiden Cinchonin bzw. Chinin von besonderem Interesse. Sie bilden sich aus letzteren durch Oxydation:



Bei der Kalkdestillation liefern sie Chinolin bzw. p-Methoxy-chinolin. Die Stellung des Carboxyls in der Cinchoninsäure lässt sich ihrem oxydativen Abbau, der zu α -, β -, γ -Pyridin-tricarbonsäure führt, entnehmen.

Die 2-Phenylchinoninsäure (2-Phenyl-chinolin-4-carbonsäure) bewirkt im Organismus gesteigerte Harnsäureauscheidung und ist daher ein wirksames, viel benutztes Mittel gegen Gicht; sie führt die Handelsbezeichnung Atophan.

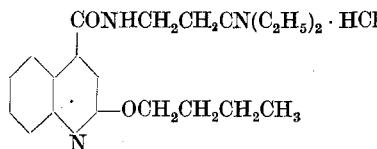
Ihre Synthese erfolgt durch Erhitzen äquimolekularer Mengen von Anilin, Benzaldehyd und Brenztraubensäure oder durch alkalische Kondensation von *Acetophenon* und *Isatin* (bzw. Isatinsäure):



Der *Methylester des Atophans* befindet sich unter der Bezeichnung *Novatophan*, der *Allylester* unter dem Namen *Atochinol* im Handel.

Der α -Oxychinolin- γ -carbonsäure oder Kynurensäure kommt wegen ihres Auftretens im Hundeharn und ihrer Beziehungen zum Tryptophan (s. d.) biologisches Interesse zu.

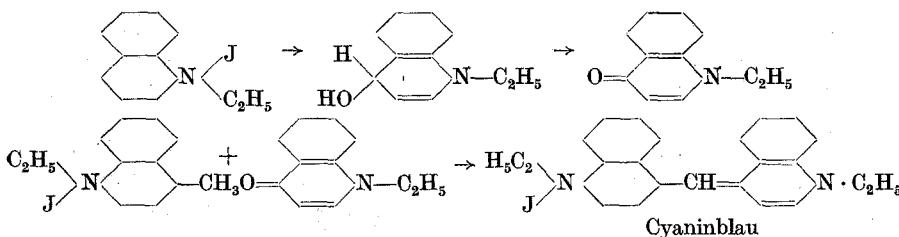
Ein Derivat der α -Oxychinolin- β -carbonsäure, das *Percain*



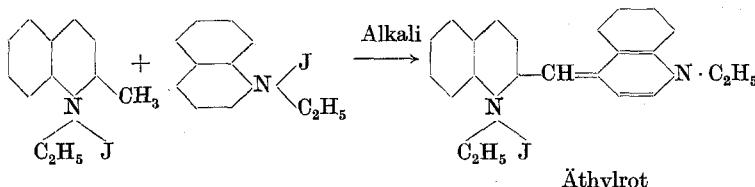
hat als starkes Anästheticum Interesse gefunden.

Die Halogenalkylate des Chinolins, Chinaldins und Lepidins sind der Ausgangspunkt einer bedeutenden Farbstoffgruppe geworden, welche die sog. Cyanin- und Isocyaninfarbstoffe umfaßt. Die ersten Kenntnisse über diese Verbindungen gehen auf *C. G. Williams* (1860) zurück. An ihrer weiteren Erforschung haben besonders *A. W. Hofmann*, *Nadler*, *Hoogewerff* und *van Dorp*, *Spaltenholz*, *Miethe*, *W. König*, *O. Fischer*, *A. Kaufmann* u. a. teilgenommen. Wegen der großen Säureempfindlichkeit und Lichtunechtheit sind diese Farbstoffe für färberische Zwecke nicht zu gebrauchen, dagegen werden sie als vorzügliche Sensibilisatoren zur Darstellung panchromatischer photographischer Platten geschätzt.

Die Cyanine sind blau; bei ihrer Entstehung nimmt ein γ -ständiges Methyl eines Chinolinhalogenalkylates an der Kondensation teil. Beispielsweise dienen zur Darstellung des Cyaninblaus Lepidinjodäthylat und Chinolinjodäthylat. Letzteres wird zunächst durch Alkali in die Pseudobase, hierauf durch Sauerstoffeinwirkung in das zugehörige Chinolon umgeformt, und dieses geht schließlich mit dem Lepidinjodäthylat die Kondensation ein:



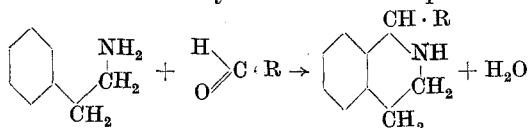
An der Bildung der roten Isocyanine beteiligen sich α -ständige Methylgruppen der Chinolinverbindungen. Das bekannte Äthylrot ist das Reaktionsprodukt aus Chinaldinjodäthylat und Chinolinjodäthylat:



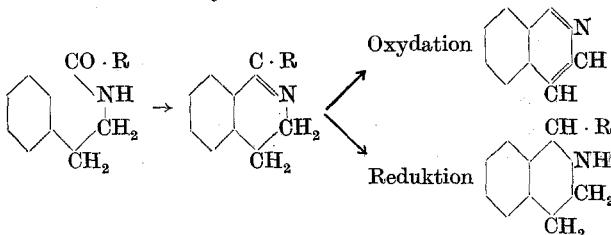
Isochinolin.

Namentlich in hydrierter, zum Teil auch in nichthydrierter Form liegt der Isochinolinring zahlreichen Alkaloiden zugrunde (vgl. Isochinolinalkaloide). Die Base wurde im Steinkohlenteer, wo sie sich in kleiner Menge findet, entdeckt (*Hoogewerff* und *van Dorp*).

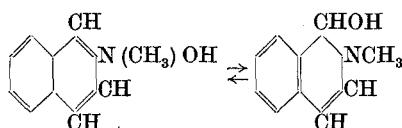
Unter den synthetischen Bildungsweisen der Isochinolinverbindungen haben sich namentlich zwei, deren Verlauf ein ähnlicher ist, als weitgehend verallgemeinerungsfähig erwiesen (*Bischler* und *Napieralsky*, *A. Pictet, Decker*). Die eine beruht auf der Kondensation von ss-Phenyläthylamin und seinen Derivaten mit Aldehyden (Kondensationsmittel Salzsäure) und führt zu Tetrahydroisochinolinkörpern:



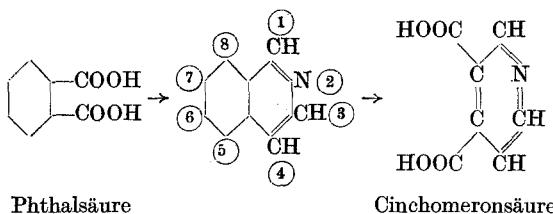
Die andere besteht in der Wasserabspaltung aus acylierten β -Phenyläthylaminderivaten, die sich z. B. durch Kochen mit Phosphorpentoxyd in Benzollösung bewirken lässt. Bei dieser Reaktion bilden sich Dihydroisochinolinverbindungen, die einerseits zu Isochinolinkörpern oxydiert und andererseits zu Tetrahydroisochinolinen reduziert werden können:



Isochinolin ist eine ziemlich starke Base; Smp. 24°, Kp. 240°. Der Geruch ist dem des Benzaldehyds etwas ähnlich. Mit Halogenalkylen verbindet es sich in stürmischer Reaktion zu quaternären Salzen. Die den letzteren zugrunde liegenden quaternären Isochinoliniumbasen können sich wie die entsprechenden Chinoliniumverbindungen in Carbinolformen umlagern, welche mit den Ammoniumhydroxydformen in einem Gleichgewichtszustand stehen:



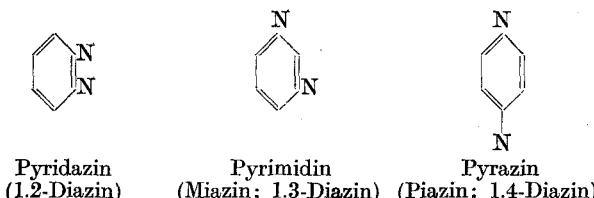
Die Oxydation des Isochinolins mit Kaliumpermanganat ergibt Phthalsäure und Cinchomeronsäure. Diese Aufspaltung ist für die Konstitution der Base beweisend:



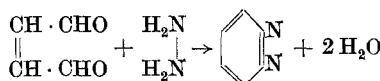
Durch Reduktion (Natrium und Alkohol) bildet sich aus Isochinolin Tetrahydroisochinolin. Es besitzt den Charakter eines aliphatischen, sekundären Amins, Kp. 230°. Über seine Konstitution gibt die Synthese aus ss-Phenyläthylamin und Formaldehyd Aufschluß (vgl. die erste der allgemeinen Bildungsweisen).

Sechsgliedrige Heterocyclen mit zwei und mehreren Heteroatomen. Diazine.

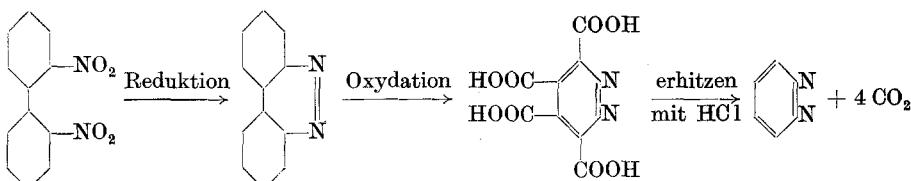
Als Diazine bezeichnet man sechsgliedrige Heterocylen mit zwei Stickstoffatomen im Ring. Es gibt drei solche Ringsysteme:



Das geringste Interesse beanspruchen die Pyridazine. Der Grundkörper, das Pyridazin selbst, lässt sich nach verschiedenen Methoden darstellen, z. B. aus Maleindialdehyd und Hydrazin:

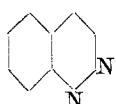
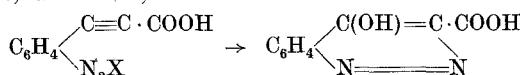


oder aus o,o'-Dinitro-diphenyl auf folgendem Weg:



Pyridazin ist eine in Wasser sehr leicht lösliche, pyridinähnlich riechende Base; Kp. 205° (756 mm, korr.). Durch Reduktion mit Natrium und Alkohol wird es in Tetramethylendiamin aufgespalten.

Aus je einem ortho-kondensierten Benzol- und Pyridazinring zusammengesetzt ist das Cinnolin. Dessen Derivate bilden sich aus aromatischen Diazokörpern, die in ortho-Stellung zur Diazogruppe eine ungesättigte Seitenkette, deren mehrfache Bindung dem Benzolkern benachbart ist, enthalten, z. B.:

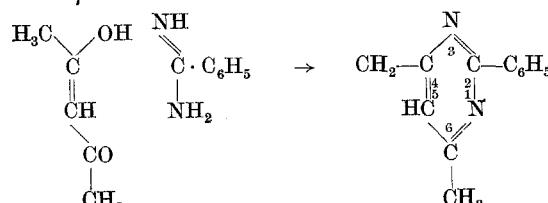


Das Cinnolin selbst (s. nebenstehende Formel) ist eine hellgelbe Verbindung, die beständige einbasische Salze bildet und sich mit JCH₃ zu einem Monojodmethylat verbindet; Smp. 38—39°.

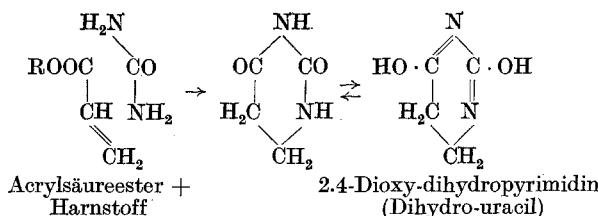
Pyrimidine. Unter den Diazinen ragt die Gruppe des Pyrimidins oder Miazins durch ihre physiologische Bedeutung hervor. Vom Pyrimidinkern leiten sich wichtige Pflanzenbasen, vor allem die Purin- bzw. Harnsäurederivate sowie gewisse Spaltprodukte der Nucleinsäuren (Uracil, Thymin, Cytosin) ab.

Im Pyrimidinkern haben die beiden Stickstoffatome gleiche gegenseitige Stellung wie jene des Harnstoffs und der Amidine; die letzteren Verbindungen lassen sich daher auch für die Synthese der Pyrimidinbasen verwenden.

Eine Bildungsweise beruht auf der Kondensation von Amidinen mit β-Diketonen oder β-Ketonsäureestern:

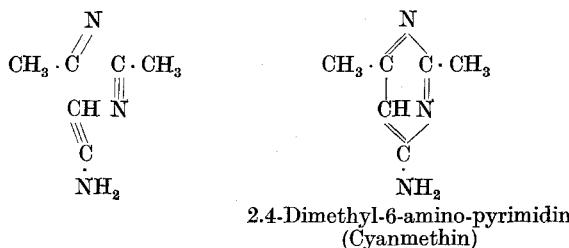


Eine andere Synthese benutzt die Anlagerung von Harnstoff an α -, β -ungesättigte Carbonsäureester und führt zu Dioxy-pyrimidinen:



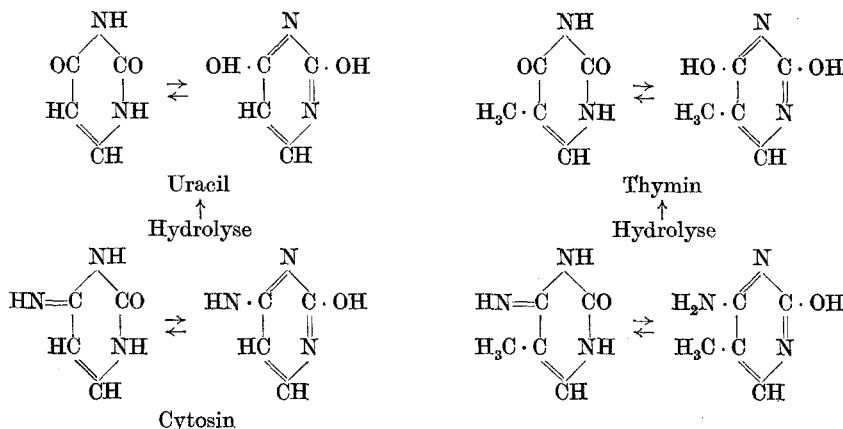
Pyrimidin ist eine recht beständige, gut krystallisierende Verbindung (Smp. 20—22°, Kp. 124° korr.), die sich in Wasser neutral löst, aber mit Säuren Salze bildet; ähnliche Eigenschaften besitzen die Homologen.

Auf eigenartige Weise lassen sich gewisse *Aminoderivate* der Pyrimidinhomologen herstellen. Man beobachtet ihre Bildung bei der Polymerisation aliphatischer Nitrite (bewirkt durch Natrium); zur Erklärung ihres Entstehens bei dieser Reaktion kann man annehmen, daß von den 3 Molekülen Alkylycyanid, die sich vereinigen, eines als Aminoacetylderivat reagiert $\text{CH}_3\text{C}\equiv\text{N} \rightleftharpoons \text{CH}\equiv\text{CNH}_2$:



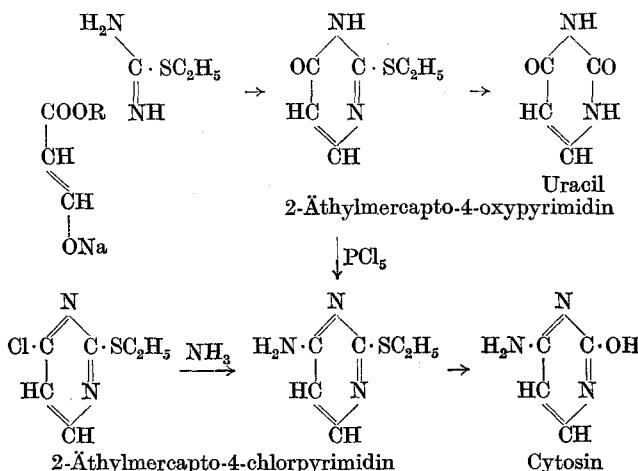
Solche Verbindungen werden Cyanalkine (Cyanmethin-äthin usw.) genannt. Sie sind starke Basen und besitzen gutes Krystallisierungsvermögen.

Dioxypyrimidine und Amino-oxy-pyrimidine. Unter den hydrolytischen Spaltungsprodukten verschiedener Nucleinsäuren (s. d.) sind zwei Dioxy- und zwei Amino-oxy-pyrimidinkörper gefunden worden; es sind Uracil-2.4-Dioxypyrimidin, Thymin-2.4-Dioxy-5-methyl-pyrimidin, Cytosin-2-Oxy-4-aminopyrimidin und 5-Methylcytosin-2-Oxy-4-amino-5-methylpyrimidin. Nach T. B. Johnson dürften nur Cytosin und Methylecytosin Primärprodukte sein und als solche am Aufbau der Nucleinsäuren teilnehmen, während Uracil und Thymin aus ihnen durch hydrolytische Zersetzung, sei es durch Einwirkung von Säure oder von Fermenten, hervorgehen. Für alle 4 Verbindungen kann man desmotrope Formen in Betracht ziehen:

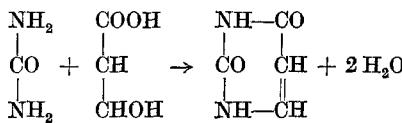


Die Konstitution dieser biologisch wichtigen Verbindungen ist durch Synthesen sichergestellt. So gewinnt man z. B. Uracil bei der Oxydation jenes Anlagerungsproduktes von Harnstoff an Acrylsäure, dem 2,4-Dioxydihydro-pyrimidin (Hydrouracil), dessen Bildung oben besprochen wurde (*E. Fischer*). Die Oxydation wird mit Brom ausgeführt; hierbei entsteht intermediär ein Monobromhydrouracil, welchem Pyridin 1 Mol. Bromwasserstoff entzieht.

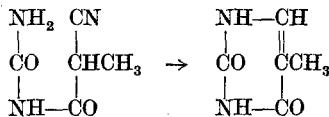
Eine zweite Synthese (*Wheeler und Merriam*) nimmt ihren Ausgang beim S-Äthyl-pseudo-thioharnstoff, der mit dem Natriumsalz des Formylessigesters zur Kondensation gebracht wird. Das erste Umsetzungsergebnis ist Athylmercapto-oxypyrimidin. Es zerfällt beim Kochen mit Salzsäure in Uracil, lässt sich aber auch durch die nachstehend skizzierte Reaktionsfolge über 2-Äthyl-mercapto-4-chlor-pyrimidin und 2-Äthyl-mercapto-4-amino-pyrimidin in Cytosin verwandeln:



Die sehr einfache Uracilsynthese von *Baudisch* beruht auf der Kondensation von Harnstoff mit Apfelsäure und Schwefelsäure; Zwischenprodukt ist die aus Apfelsäure entstandene Formylessigsäure:



Thymin ist besonders leicht durch Reduktion von Methyl-cyan-acetylharnstoff mit $\text{H}_2 + \text{Pt}$ zugänglich:



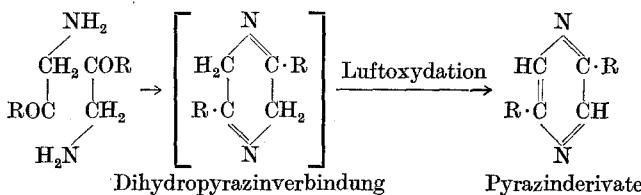
Uracil und Thymin, beide von *Kossel* entdeckt, sind neutral; Smp. 338 bzw. 340°. Durch Einwirkung von Säure wird es zu Uracil desamidiert.

Zu den Oxyderivaten des Pyrimidins müssen auch die wichtigsten Ureide mehrerer Dicarbonsäuren gezählt werden, die Barbitursäure, das Alloxan und andere.

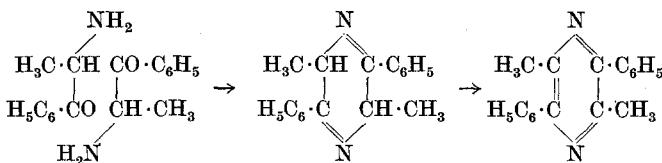
Unter den kondensierten Pyrimidinsystemen hat dasjenige des Purins die größte Bedeutung; vgl. Puringruppe.

Pyrazine. Das heterocyclische Ringsystem des Pyrazins begegnet uns hier nicht zum erstenmal; eine Reihe von Farbstoffen, in denen es, mit Benzolkernen kondensiert, vorkommt, ist im Zusammenhang mit anderen Farbstoffgruppen früher behandelt worden, vgl. z. B. Phenazinfarbstoffe, Indanthren u. a. An dieser Stelle beschränken wir uns darauf, Bildungsweise und Eigenschaften einiger einfach gebauter Pyrazinkörper kennenzulernen.

Solche bilden sich allgemein leicht aus α -Aminoketonen $\text{R}\cdot\text{COCH}_2\text{NH}_2$, die in freiem Zustand nicht beständig sind, sondern sich über die sehr oxydablen Dihydropyrazine schnell zu Pyrazinen kondensieren:



Gegen oxydative Einflüsse etwas weniger empfindlich und daher isolierbar erweisen sich solche Dihydropyrazinderivate, die durch Ringschluß aus α -Aminoketonen der Formel $\text{R}\cdot\text{CO}\cdot\text{CHR}'\cdot\text{NH}_2$ hervorgehen:



Dialkylierte α -Aminoketone $R \cdot CO \cdot C(Alkyl)_2 \cdot NH_2$ sind stabil, d. h. sie gehen weniger leicht in Pyrazinverbindungen über (Gabriel).

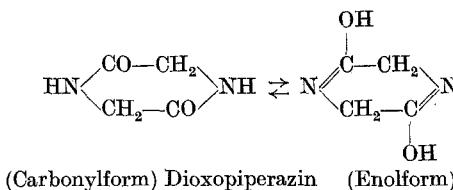
Die einfachen Pyrazine sind leicht flüchtige, destillierbare Verbindungen mit aromatischem Geruch; derjenige des Pyrazins erinnert etwas an Heliotrop. Im Wasser lösen sich diese Körper leicht unter Hydratbildung. Trotz der vorhandenen zwei Stickstoffatome vermögen sie nur 1 Mol. Alkylhalogenid anzulagern. Smp. des Pyrazins 53—55°, Kp. 116°.

Alle Pyrazine können leicht zu den Hexahydriden, dem Piperazin und seinen Derivaten reduziert werden.

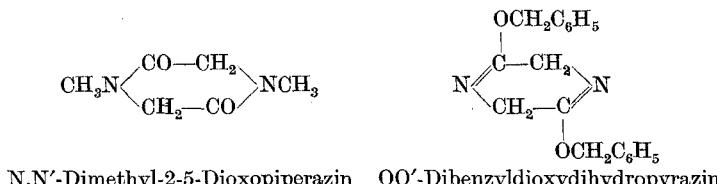
Piperazin ist eine starke, in Wasser leicht lösliche Base, die gut krystallisierende Salze liefert; Smp. 104°, Kp. 145°. Ihr allgemeines chemisches Verhalten entspricht dem der aliphatischen sekundären Amine.

In neuerer Zeit haben gewisse Oxyderivate des Piperazins, die 2,5-Dioxopiperazine oder 2,5-Diketopiperazine, eingehende Bearbeitung erfahren. Den äußeren Anlaß zu diesen Untersuchungen gab die Beobachtung, daß 2,5-Dioxo-piperazine unter den Produkten der sauren und fermentativen Eiweißhydrolyse zu finden sind (E. Fischer, Abderhalden). Es ist allerdings noch nicht sicher, inwieweit sie als solche primär im Eiweiß vorkommen, da sie sich äußerst leicht aus Aminosäuren und Dipeptiden bilden und ihr Auftreten unter den Zersetzungprodukten der Proteine daher auch auf sekundäre Prozesse zurückgehen könnte.

2,5-Dioxopiperazin und seine Derivate reagieren tautomer:

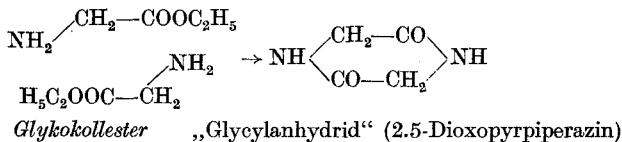


Von den beiden Formen sind Derivate bekannt, z. B.



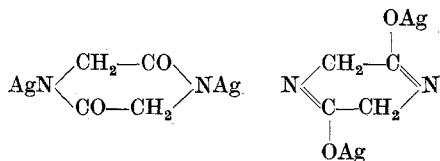
Wenn Diketopiperazine in wesentlichem Betrag am Aufbau der Eiweißkörper beteiligt sind, so bliebe noch die Frage offen, ob sie als Carbonyl- oder Enolformen darin vorkommen.

Zur Darstellung der 2,5-Diketopiperazine geht man meist von den freien Estern der Aminosäuren aus, die sich schon bei längerem Aufbewahren spontan, schneller beim Erwärmen unter Alkoholabspaltung zu Diketopiperazinen kondensieren (*Curtius und Goebel*).



Auch durch Erhitzen der freien Aminosäuren in verdünntem Glycerin auf etwa 170°, oder durch längeres Erwärmen von Dipeptiden mit verdünnter Chlorwasserstoffsäure werden diese Aminosäureanhydride gebildet.

Diketopiperazine sind feste, gut krystallisierte Verbindungen, die neutral reagieren und zum Teil gut charakterisierte Metallsalze geben; für diese sind die beiden folgenden Formulierungen in Erwägung zu ziehen:



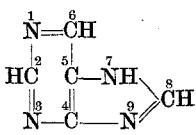
Bei der Reduktion mit Natrium und Alkohol liefern 2,5-Dioxopiperazine in allerdings mangelhafter Ausbeute Piperazine. Dieser Vorgang hat zur Beurteilung ihrer Konstitution Bedeutung. Gegen Alkalien sind besonders die einfach gebauten Glieder sehr empfindlich. Sie werden unter Wasseranlagerung in Dipeptide aufgespalten. Säuren wirken auf gewöhnliche 2,5-Dioxopiperazine und ihre N,N-Dialkylderivate erst bei längerem Kochen verseifend ein. Vollkommen anders verhält sich aber das von der desmotropen Form sich ableitende 0,0'-Dibenzyl-dioxydihydro-pyrazin (vgl. oben), das schon sehr verdünnte Säuren in der Kälte in Benzylalkohol und Glykokoll zersetzen.

Purinverbindungen¹.

Die Purinkörper bilden eine Gruppe sehr nahe verwandter, strukturell völlig geklärter Verbindungen, die im Pflanzenreich, zum Teil auch im

¹ Vgl. auch *R. Feulgen*: Chemie und Physiologie der Nucleinstoffe nebst Einführung in die Chemie der Purinkörper. Berlin 1923. — *Fischer, E.*: Untersuchungen in der Puringruppe. Berlin 1907.

tierischen Organismus, verbreitet vorkommen. Zu ihnen ist der Konstitution nach auch die Harnsäure zu zählen, neben dem Harnstoff das wichtigste stickstoffhaltige Endprodukt des tierischen Stoffwechsels. Ihre nahen Beziehungen zu den übrigen Purinverbindungen lassen ihre Besprechung an dieser Stelle zweckmäßig erscheinen.



Purin besitzt die Formel (s. nebensteh. Formel) und stellt daher ein Gebilde dar, das aus einem Imidazol- und einem Pyrimidinring, denen zwei Kohlenstoffatome gemeinsam angehören, zusammengesetzt ist.

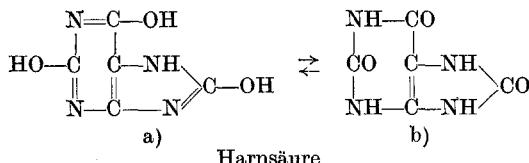
Harnsäure. Im Körper des Menschen und der Säugetiere trifft man Harnsäure unter normalen Verhältnissen nur in kleinen Mengen; Spuren sind im Blut enthalten, geringe Quantitäten werden durch den Harn ausgeschieden. Letztere entstammen wahrscheinlich dem Nucleinsäurestoffwechsel (s. d.) und sind Abbauprodukte verschiedener Purinkörper.

Unter pathologischen Verhältnissen kann es im Organismus zu größeren Harnsäureablagerungen kommen; so bei der Gicht, die mit Abscheidung von Harnsäure in den Gelenken verbunden ist. Blasensteinen und Nierensteine bestehen fast ganz aus Harnsäure bzw. harnsauren Salzen; in den Blasensteinen wurde die Verbindung auch von *T. Bergmann* (1776) sowie gleichzeitig von *Scheele* (in Harn und Blasensteinen) entdeckt.

Als stickstoffhaltiges Stoffwechselendprodukt hat Harnsäure besonders im Organismus der Reptilien und Vögeln große Bedeutung; sie wird hier durch Eiweißabbau gebildet. In den Exkrementen dieser Tiere ist sie die hauptsächlichste stickstoffhaltige Verbindung, kommt daher auch im Guano reichlich vor und wird daraus im großen hergestellt.

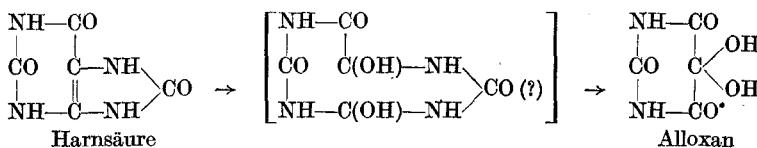
Schlangen und andere Reptilien entledigen sich eines Teiles der Harnsäure beim Abstreifen der Haut, in welcher stets Harnsäure deponiert wird.

Die Konstitution der Harnsäure ist völlig geklärt; in ihr liegt das 2.6.8-Trioxypurin vor, das tautomer, im Sinn von a) und b) geschrieben werden kann; sein Absorptionsspektrum spricht dafür, daß in diesem Gleichgewicht die Carbonylform b) sehr stark überwiegt.

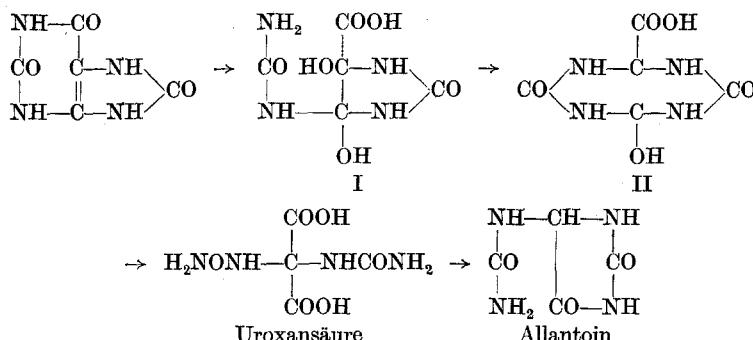


Für diese Struktur sprechen einmal die Ergebnisse des oxydativen Harnsäureabbaues. Während die Verbindung gegen den hydrolyserenden Einfluß von Säuren und Basen und gegen Reduktionsmittel nicht unempfindlich, aber widerstandsfähig ist, wird sie von Oxydationsmitteln

in saurer und alkalischer Lösung leicht angegriffen. *Salpetersäure* baut sie zum *Alloxan* (*Mesoxalylharnstoff*) ab, wobei vielleicht ein Glykol Zwischenprodukt der Zersetzung ist. Durch diese Reaktion gelingt es also, die Pyrimidinhälfte der Harnsäure abzutrennen.



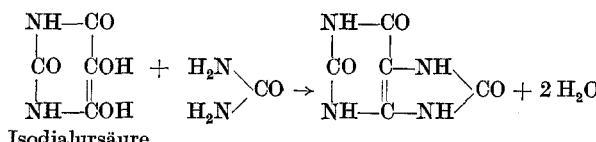
Der Imidazolkern des Harnsäuremoleküls bleibt bei der Oxydation der Verbindung in neutraler oder alkalischer Lösung erhalten; er erscheint dann in Form des Allantoins. Es ist wahrscheinlich, daß auch dieser Abbau über ein Glykol I und ein weiteres, isolierbares Zwischenprodukt II führt:



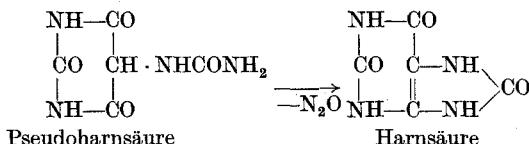
Der Abbau der Harnsäure zu Allantoin spielt sich unter der Wirkung eines Fermentes, der „Uricase“, ab. Auf diesem Wege dürften unter natürlichen Bedingungen erhebliche Mengen von Allantoin entstehen; man trifft die Verbindung öfters im Harn der Tiere, besonders in dem der Carnivoren, sehr verbreitet vor allem aber im Pflanzenreich. Sie reagiert neutral, ist optisch inaktiv und schmilzt bei 238—240°. Optisch aktives Allantoin ($[\alpha]_D^{20} = -92^\circ 24'$) konnte durch Vergärung des Racemats mit einem in Samen vorkommenden Ferment „Allantoinase“ gewonnen werden (R. Fosse).

Harnsäure ist auf verschiedenen Wegen synthetisiert worden.

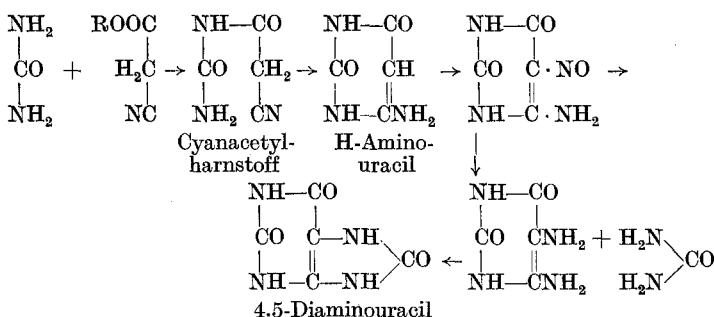
1. Die älteste, in ihrem Verlauf klare Synthese ist diejenige von Behrend und Roosen (1888), bei welcher Isodialursäure mit Harnstoff kondensiert wird.



2. Größeres präparatives Interesse besitzt die Harnsäuresynthese von *E. Fischer* und *L. Ach.* Hier wird die „*Pseudoharnsäure*“, die *A. v. Baeyer* aus Uramil gewonnen hatte, durch Schmelzen mit Oxalsäure oder Kochen mit Salzsäure zur Harnsäure anhydriert.



3. Sehr verallgemeinerungsfähig und daher für den präparativen Ausbau der Puringruppe fruchtbar war die Methode, die *W. Traube* zur künstlichen Darstellung der Harnsäure vorschlug. Man kondensiert Harnstoff mit Cyanessigester zum Cyanacetylharnstoff, der sich unter der Einwirkung von Alkalien in 4-Amino-2,6-dioxy-pyrimidin (4-Aminouracil) isomerisiert; über die Nitrosoverbindung lässt sich letzteres in 4,5-Diaminouracil verwandeln. Wird 4,5-Diaminouracil endlich mit Harnstoff verschmolzen, so bildet sich in guter Ausbeute Harnsäure.

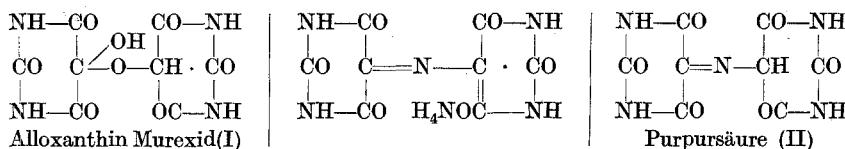


Harnsäure ist eine weiße, krystallisierte, in Wasser schwer lösliche Substanz, die schwach saure Eigenschaften besitzt. Sie bildet zwei Reihen Salze (Urate), primäre der Zusammensetzung $\text{Me}^{\text{I}}\text{C}_5\text{H}_3\text{O}_3\text{N}_4$ und sekundäre $\text{Me}_2^{\text{I}}\text{C}_5\text{H}_2\text{O}_3\text{N}_4$. Die primären Alkaliurate lösen sich in Wasser sehr schwer, besitzen aber die Eigentümlichkeit, leicht übersättigte, kolloide Lösungen zu bilden; das primäre Natriumsalz ist ein Bestandteil der Harnsteine, das primäre Ammoniumurat kommt in Schlangen-exkrementen, Nieren- und Blasensteinen vor.

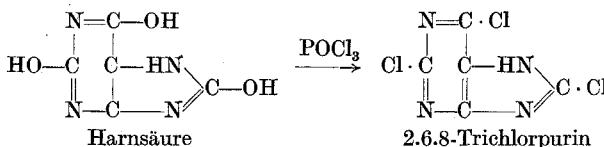
Sekundäre Alkaliurate haben in Wasser größere Löslichkeit.

Zum Nachweis der Harnsäure kann die Murexidreaktion dienen, die allerdings auch bei vielen anderen Purinkörpern positiv ausfällt: Harnsäure wird mit Salpetersäure eingedampft, wobei ein Rückstand bleibt, der sich mit Ammoniak purpurrot färbt. Die Ursache dieser Färbung ist das Murexid, das Ammoniumsalz der sog. Purpursäure. Durch die Salpetersäureeinwirkung wird die Harnsäure nämlich zum Teil

in Alloxanthin, eine Molekülverbindung von Alloxan und Dialursäure, die vielleicht nachstehende Konstitution hat¹, übergeführt und Ammoniak formt dieses hernach in purpursaures Ammon (Murexid) um, welchem man die Formel I zuerteilt; für die freie Purpursäure, die durch hydrolysierende Agenzien äußerst leicht in Alloxan und Uramil zerfällt, wird das Bild II bevorzugt:

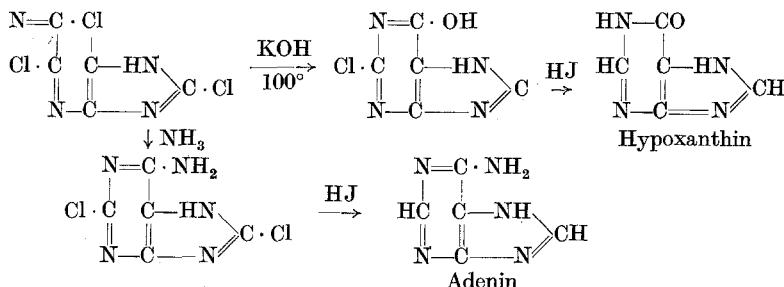


Für den Ausbau der Puringruppe gewann die Überführung der Harnsäure in 2.6.8-Trichlorpurin, die sich unter der Einwirkung von Phosphoroxychlorid vollzieht, große Bedeutung:



Im Austausch einzelner Halogenatome des Trichlorpurins gegen OH oder NH₂ hat E. Fischer einen Weg gezeigt, der zur Synthese sämtlicher natürlicher Purinbasen benutzt werden kann.

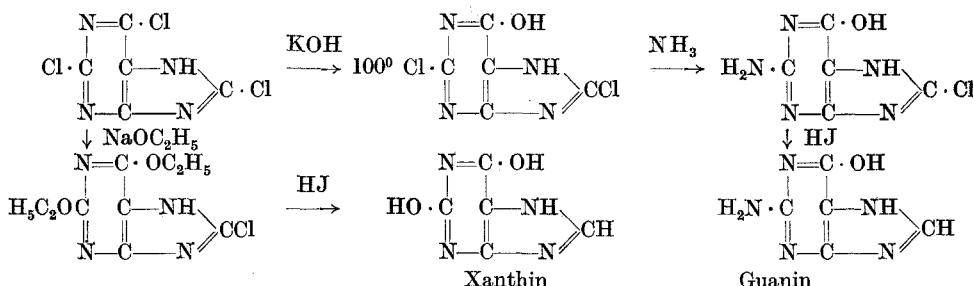
Am leichtesten ist das Chloratom der Stellung 6 substituierbar; bei gemäßigter Einwirkung von Kalilauge wird es durch Hydroxyl, unter dem Einfluß von Ammoniak durch NH₂ ersetzt. Nachher reduziert man die beiden übriggebliebenen Chloratome mittels Jodwasserstoffsäure weg und gewinnt damit einerseits *Hypoxanthin* (6-Oxypurin), andererseits *Adenin* (6-Aminopurin):



Dem Chloratom 6 des 2.6.8-Trichlorpurins folgt in der Reaktionsfähigkeit das in Stellung 2 befindliche. Daher ist es möglich, auf dem

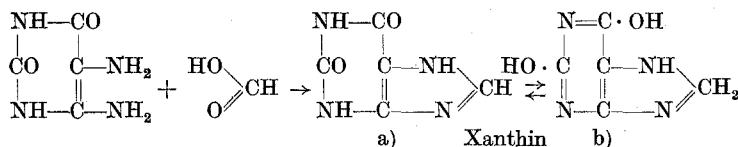
¹ Über eine andere Formulierung s. Ber. 54, 1267.

durch die folgenden Bilder angedeuteten Wege auch *Guanin* (2-Amino-6-oxypurin) und *Xanthin* (2.6-Dioxypurin) darzustellen:



Xanthin (2.6-Dioxypurin). Dieses wichtige Purinderivat findet sich in kleinen Mengen im Pflanzenreich verbreitet: es begleitet das Coffein im Tee, ist in tierischen Sekreten (Harn), ferner im Blut, in der Leber usw. nachgewiesen, kommt auch in Blasensteinen vor, wo es *Maracet* (1817) entdeckte.

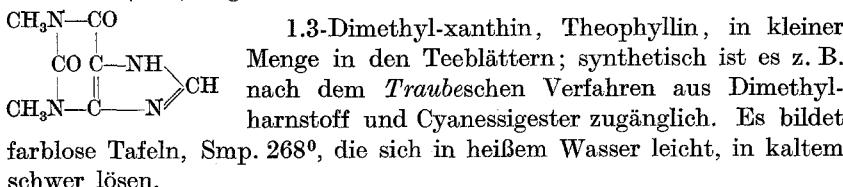
Seine künstliche Bildung aus Harnsäure über Trichlorpurin haben wir eben kennengelernt. Eine zweite Synthese, diejenige *W. Traubes*, stellt die Verbindung aus 4.5-Diaminouracil (2.6-Dioxy-4.5-diaminopyrimidin) (s. d.) durch Kondensation mit Ameisensäure her:



Natürlich dürfen für Xanthin wie für die Harnsäure tautomere Formeln im Sinne von a) und b) Verwendung finden.

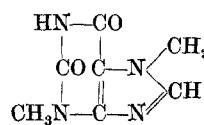
Die Verbindung krystallisiert gut, löst sich in Wasser sehr schwer, bildet mit Alkalien Salze, aber auch mit Chlorwasserstoffsaure ein Hydrochlorid C₅H₄O₂N₄Cl, mit Salpetersäure ein Nitrat. Sie gibt Murexidreaktion.

Am Stickstoff methylierte Xanthine sind sehr wichtige Naturprodukte. Im tierischen Nucleinsäurestoffwechsel unterliegt Xanthin, ebenso Hypoxanthin (s. d.), teilweise einer fermentativen Oxydation zu Harnsäure und wird dann als solche ausgeschieden, oder (z. B. bei Carnivoren) weiter zu Allantoin (s. d.) abgebaut.



Praktisch benutzt man seine stark harnreibende Wirkung. Als Diureticum führt es die Handelsbezeichnung Theocin.

3.7-Dimethyl-xanthin, Theobromin, das wichtigste Alkaloid der Kakaobohnen, in denen es bis zu 1,8% vorkommt. Wie Theophyllin ist es nur in heißem Wasser reichlich löslich; Smp. 351°. Bei der Methylierung des Theobrominsilbers entsteht Coffein (s. d.).



Die technische Darstellung des Theobromins kann nach verschiedenen Verfahren erfolgen; zweckmäßig erwies sich z. B. die Weitermethylierung des leicht zugänglichen 3-Methyl-xanthins.

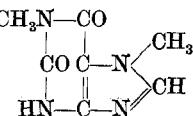
Als Diureticum hat Theobromin erhebliche praktische Bedeutung; vielfach werden aber an Stelle der in Wasser schwer löslichen Substanz ihre Doppelverbindungen mit Salzen benutzt, die häufig eine bedeutend größere Löslichkeit besitzen. Erwähnt seien:

Diuretin — Theobrominnatrium — Natriumsalicylat.

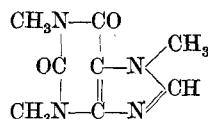
Theolactin — Theobrominnatrium — Natriumlactat.

Agurin — Theobrominnatrium — Natriumacetat.

1.7-Dimethyl-xanthin, Paraxanthin, wurde im Harn nachgewiesen; Smp. 299°, schwerlöslich in kaltem Wasser.



Auch diese Verbindung lässt sich nach der Traubeschen Synthese aus Monomethylharnstoff darstellen.



1.3.4-Trimethylxanthin, Kaffein (Coffein, Thein).

Dieses wichtige Purinderivat ist in verschiedenen Pflanzen, die alle als Genussmittel Anwendung finden, vorhanden. Bis zu 1,5% Kaffein enthalten die Kaffeebohnen; hier wurde es auch ungefähr gleichzeitig (1820) von Runge, von Robiquet und von Pelletier entdeckt. Noch reicher daran sind die getrockneten Teeblätter (bis zu 5%); ferner kommt die Verbindung in der Colanuß, im Kakao, im Maté (Paraguay-Tee) vor.

Seiner künstlichen Bildung aus Theophyllin, Theobromin und Paraxanthin durch Weitermethylierung wurde schon Erwähnung getan. In der Technik benutzt man eine Synthese, die von der Harnsäure über 8-Methylxanthin zu Kaffein führt; die Hauptmenge der Verbindung

gewinnt man jedoch aus Teeabfällen und als Nebenprodukt bei der Darstellung von coffeinfreiem Kaffee.

Koffein besitzt eine die Herzaktivität anregende und belebende Wirkung, von der medizinisch ausgiebig Gebrauch gemacht wird, und die sich auch beim Tee- und Kaffeegenuss äußert. Daneben fehlt ihm die diuretische Komponente nicht, die aber den Dimethylxanthinen in noch höherem Maße eigen ist.

1-Methylxanthin und 7-Methylxanthin (Heteroxanthin).

Zu erwähnen ist ihr reichliches Vorkommen im Harn. Beide Verbindungen besitzen geringe Wasserlöslichkeit und sind synthetisch zugänglich.

Hypoxanthin. Hypoxanthin oder 6-Oxypurin ist im Tier- und Pflanzenreich recht verbreitet. Es nimmt Teil am Aufbau der Nucleinsäuren und kann daher durch Hydrolyse derselben erhalten werden.

Die bequemste Darstellungsmethode ist die vom Trichlorpurin ausgehende. Aus Adenin (6-Aminopurin) entsteht Hypoxanthin durch Desamidierung. Diese kann unter der Einwirkung von salpetriger Säure oder auf biologischem Weg durch einen enzymatischen Prozeß (Adenase) erfolgen.

In Wasser löst sich Hypoxanthin wenig; von Alkalien wird es unter Salzbildung aufgenommen, ebenso von Mineralsäuren. Beim Erhitzen zersetzt es sich, ohne zu schmelzen.

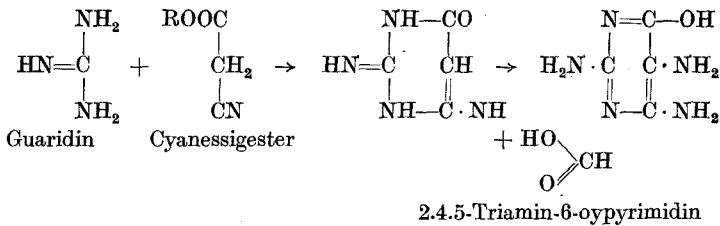
Adenin oder 6-Aminopurin gehört zu den verbreitetsten Purinbasen. In gebundener Form nimmt es am Aufbau der Nucleinsäuren teil und kann aus ihnen durch Hydrolyse leicht abgespalten werden. Frei findet es sich in zahlreichen Pflanzen (Tee, Zuckerrübe, Hopfen usw.), in Pilzen (reichlich in Hefe), in Bakterien, in tierischen Organen (Muskel, Placenta, Leber), im Harn.

Zur künstlichen Darstellung des Adenins eignet sich das vom Trichlorpurin ausgehende Verfahren, auch aus Tee-Extrakten und Melasse ist es in größerem Maßstab dargestellt worden.

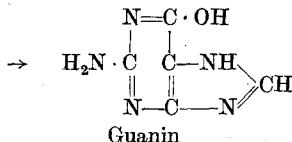
Die Verbindung krystallisiert mit und ohne Wasser, schmilzt bei etwa 360° unter Zersetzung, kann aber bei 220° sublimiert werden. In Wasser löst sie sich wenig, in Mineralsäuren und Alkalien leicht unter Salzbildung.

Guanin, d. h. 2-Amino-6-oxypurin begleitet Adenin in vielen Pflanzen und tierischen Organen. Beträchtliche Mengen findet man in den Schuppen und der Haut von Fischen, Reptilien und Amphibien, deren eigenartig schillernder Glanz häufig durch krystallisiertes Guanin verursacht ist. Es bildet ferner einen Bestandteil der Nucleinsäuren und wird durch deren hydrolytischen Abbau frei.

Neben der besprochenen Synthese des Guanins aus Harnsäure ist namentlich die Methode *W. Traubes* zur Darstellung der Verbindung empfehlenswert:



In ähnlicher Art wie Adenin kann auch Guanin durch Fermente (Guanasen), die in tierischen Organextrakten und solchen aus Keimlingen,



nachgewiesen wurden, der Desamidierung unterliegen. Dabei wird Xanthin gebildet.

In Wasser und Alkohol ist Guanin fast unlöslich; dagegen nehmen es Alkalien und Säuren unter Salzbildung auf.

Nucleinsäuren¹.

Die Nucleinsäuren oder Polynucleotide finden sich mit Eiweiß ver-einigt in den sog. Nucleoproteiden, integrierenden, biologisch wichtigen Bestandteilen der Zellkerne. Ihre Zusammensetzung ist recht komplex und wechselnd.

Bei der totalen Hydrolyse liefern die Nucleinsäuren Phosphorsäure, Zucker, Pyrimidine und Purinverbindungen. Der Zucker der Hefenucleinsäure und jener aus Pflanzen (Weizen) ist d-Ribose (Levene); in Thymusnucleinsäure kommt die d-2-Ribodesose $\text{CH}_2\text{CHOHCHOHCH}_2\text{CHOH}$ vor (unter „Desoxyzucker“ oder „Desosen“ versteht man Kohlehydrate, welche an Stelle einer Alkoholgruppe — CHOH — die Atomgruppe — CH_2 — enthalten).

An heterocyclischen Basen wurden die Pyrimidine: Uracil (s. d.), Thymin (s. d.), Cytosin (s. d.), Methyl-cytosin (s. d.) und die Purine: Hypoxanthin, Guanin, Xanthin und Adenin als Spaltstücke von Nucleinsäuren isoliert. Thymin tritt vornehmlich in tierischen Nucleinsäuren (Thymonucleinsäuren) auf.

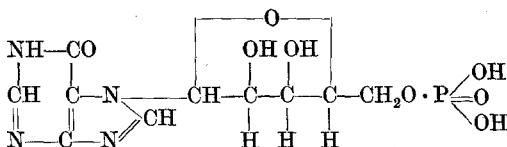
Die partielle Hydrolyse der Nucleinsäuren hat einen etwas tieferen Einblick in ihren Molekülbau gestattet. Sie führte zu vier verschiedenartig zusammengesetzten Abbauprodukten:

¹ Levene, P. A. and L. W. Bass: Nucleic acids. New York 1931.

- a) den Nucleotiden oder Mono-nucleotiden (Inosinsäure, Guanylsäure, Adenylsäuren),
- b) Nucleosiden: Verbindungen aus Purinbasen und Zucker (Inosin, Guanosin, Adenosin),
- c) Verbindungen aus Pyrimidinen und Zuckern (Uridin, Cytidin, Thymidin),
- d) Verbindungen aus Uridin, Cytidin und Phosphorsäure (Uridylsäure, Cytidylsäure).

Nucleotide (Mono-Nucleotide).

a) Inosinsäure. Sie findet sich im Fleischextrakt, wo sie schon von Liebig beobachtet worden ist, und ist wahrscheinlich sekundärer Natur, aus einer Nucleinsäure hervorgegangen. Ihr Molekül besteht aus Phosphorsäure, *d-Ribose* und *Hypoxanthin*, die in folgender Weise miteinander verkettet sind:

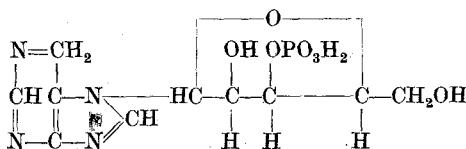


Während sie durch starke hydrolytische Eingriffe in die drei Komponenten zerfällt, ist es möglich, unter mildereren Bedingungen ein Hypoxanthosin-ribosid, das Inosin oder Hypoxanthosin, zu fassen; ferner ist es gelungen, die partielle Hydrolyse so zu leiten, daß Ribose-phosphorsäure erhalten blieb. Diese hat sich als furanoside *d-Ribose-5-phosphorsäure* erwiesen.

b) Muskel-Adenylsäure. Eine von Embden im Muskel entdeckte Muskeladenylsäure, steht in Beziehung zum Kohlenhydratabbau in den tierischen Organen. Ihre Vorstufe ist eine Adenylpyrophosphorsäure bzw. Adenosintriphosphorsäure ($C_{10}H_{16}O_{13}N_5P_3$), die bei der Muskelkontraktion unter Abspaltung von 2 Mol. Phosphorsäure in Adenylsäure übergeht (Lohmann).

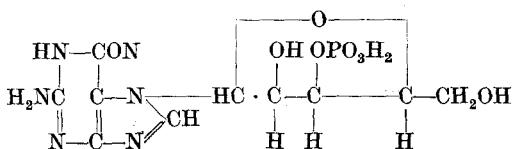
Die Adenylsäure kann im Organismus desamidiert und dadurch in das entsprechende Oxypurinderivat, die Inosinsäure, übergeführt werden. Durch diesen leicht erfolgenden Übergang ist die Konstitution der Muskeladenylsäure abgeklärt; man gelangt zu ihrem Formelbild, wenn man in der vorstehenden Inosinsäureformel den Hypoxanthinrest durch den des Adenins ersetzt.

c) Hefe-Adenylsäure. Durch vorsichtige Hydrolyse der Hefenucleinsäure gewinnt man neben dem Nucleotid Guanylsäure, die Hefeadenylsäure. Sie erwies sich verschieden von der Adenylsäure aus Muskeln, und zwar liegt der Unterschied in der Stellung des Phosphorsäurerestes, der in der Hefeadenylsäure am dritten C-Atom der Ribose haftet:



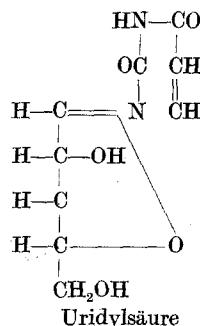
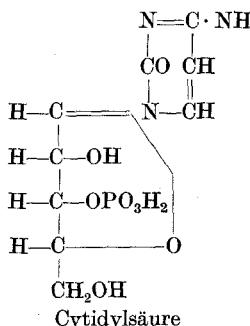
Die d-Ribose-3-phosphorsäure konnte aus der Verbindung durch Partialhydrolyse isoliert werden.

d) *Guanylsäure*. Auch dieses Mononucleotid ist ein Spaltstück der Hefenucleinsäure, scheint aber auch in anderen Nucleinsäuren (Thymonucleinsäure, Pankreasnucleinsäure) vorzukommen. Sie baut sich aus Phosphorsäure, d-Ribose und Guanin auf, die in ähnlicher Weise, wie die drei Bausteine der Hefadenylylsäure, verbunden sind:



Als ein Produkt einer Partialhydrolyse ist aus Guanylylsäure Guaninribosid, das Guanosin oder Vernin, isoliert worden, welches auch in Pflanzen vorkommt.

e) *Cytidylsäure und Uridylsäure*. Diese beiden Verbindungen, die in ihrem Bau den Mononucleotiden entsprechen, jedoch an Stelle der Purinbasen einen Cytosin- bzw. Uracilkern enthalten, wurden bei der Hydrolyse von Hefenucleinsäure mit verdünntem Alkali bei Zimmertemperatur aufgefunden. Sie sind also Bausteine dieser Nucleinsäure. Ihre Konstitution ließ sich durch Arbeiten von Levene und von Bredereck im Sinn der beiden folgenden Formeln aufklären:



Wie in der Hefadenylylsäure und der Guanylylsäure steht der Phosphorsäurerest auch in der Cytidylsäure und Uridylsäure in Stellung 3 der Ribosegruppe.

Nucleoside. Unter diesem Namen faßt man die Verbindungen, die aus Zuckerrest und Pyrimidin oder Purinbase bestehen, zusammen. Sie gehen also aus den vorbesprochenen Mononucleotiden durch Abspaltung der Phosphorsäuregruppe hervor. Aus Inosinsäure bildet sich so das Inosin, aus Hefeadenylsäure und Muskeladenylsäure dasselbe Adenosin, aus Guanylsäure Guanosin, aus Cytidylsäure und Uridylsäure Cytidin bzw. Uridin usw. Ihre Formeln ergeben sich aus den vorstehend für die einzelnen Nucleotide aufgeführten. Alle Nucleoside aus Hefenucleinsäure haben furanoside Ribosegruppen.

Nucleinsäuren (Polynucleotide). Die bestuntersuchte Nucleinsäure, diejenige aus Hefe, besteht aus 4 Mononucleotiden; Adenylysäure, Guanylsäure, Cytidylsäure und Uridylsäure (*Levene*).

Guanin-Ribose-Phosphorsäure,

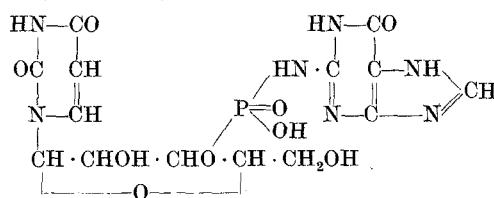
Uracil-Ribose-Phosphorsäure,

Cytosin-Ribose-Phosphorsäure,

Adenin-Ribose-Phosphorsäure.

Auch für die Thymonucleinsäure konnte neuerdings eine tetranucleotidische Struktur sichergestellt werden; hier sind die 4 Bausteine Guanylsäure, Adenin-, Thymin- und Cytosinnucleotid. Ungewißheit besteht noch über die Verknüpfung der einzelnen Nucleotidreste; es ist möglich, daß sie nicht in allen Nucleinsäuren gleichartig ist. Auf verschiedenartige Verknüpfungsprinzipien weist z. B. die größere Alkalistabilität der Thymonucleinsäure gegenüber der Hefenucleinsäure hin.

Durch schwach saure Hydrolyse der Hefenucleinsäure gelang die Isolierung der Guanin-uridylsäure, der folgende Konstitution zugeschrieben wird (*Bredereck*):

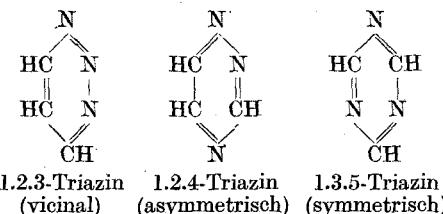


Hydrolyse in alkalisiertem Medium spaltet aus Hefenucleinsäure Guanylsäure ab und gibt ein Trinucleotid, bestehend aus Uridyl-, Cytidyl- und Adenylysäure. Guanylsäure muß daher endständig stehen. Aus dem Trinucleotid ließ sich Adenylysäure abspalten. Somit scheint die Reihenfolge der Bausteine im Hefenucleinsäuremolekül folgende zu sein: Guanyl-, Uridyl, Cytidyl, Adenylysäure.

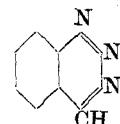
'Triazine.'

Für die Verteilung dreier Stickstoffatome im heterocyclischen Sechsring liegen drei Möglichkeiten vor, die in den Gruppen des vicinalen,

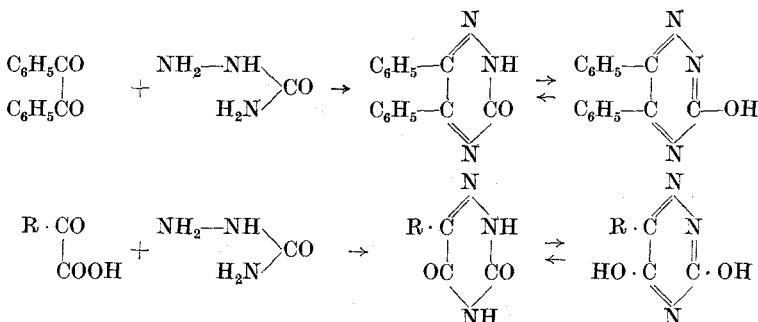
Sechsring liegen drei Möglichkeiten vor, die in den Gruppen des vicinalen, asymmetrischen und symmetrischen Triazins verwirklicht sind:



Der 1.2.3.-Triazintypus ist nur in kondensierten Ring-systemen, z. B. in dem des Benzotriazins, bekannt: ein besonderer Grund zur Besprechung dieser Verbindungen besteht indessen nicht.



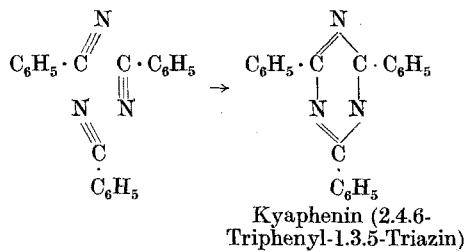
Auch die 1.2.4-Triazinderivate beanspruchen geringes Interesse. Am leichtesten sind solche zugänglich, die ein oder zwei Sauerstoffatome enthalten. Sie bilden sich aus aromatischen Diketonen bzw. aus α -Ketosäuren beim Umsatz mit Semicarbazid:



Diese Oxytriazine gehen sowohl mit Basen wie mit Säuren Salze ein; die letzteren werden jedoch durch Wasser hydrolytisch zersetzt.

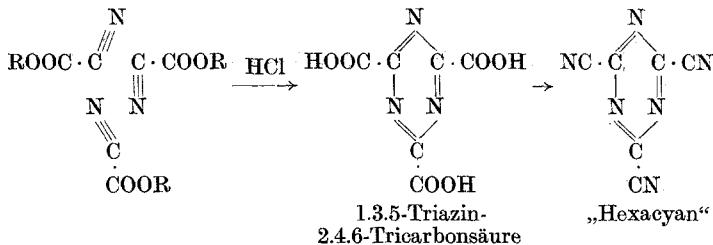
Eine große Verbindungsklasse bilden die Derivate des symmetrischen oder des 1.3.5-Triazins. Schon an früheren Stellen dieses Buches hatten wir Gelegenheit gefunden, einige solche kennenzulernen. Denn als Abkömmlinge des 1.3.5-Triazins sind die Cyanursäure und Isocyanursäure, Cyanursäurechlorid, Cyanursäureester, Melanin u. a. aufzufassen, ferner gehört wahrscheinlich das Hexamethylentetramin hierher.

Zahlreiche aromatische Derivate des 1.3.5-Triazins sind durch Polymerisation aromatischer Nitrile zugänglich. Während sich aliphatische Nitrile gewöhnlich zu Pyrimidinkörpern polymerisieren (Cyanmethin), schließen sich z. B. unter dem Einfluß von konz. Schwefelsäure oder von Natrium drei Molekel eines aromatischen Nitrils zu einem Triazinring zusammen:



Cyaphenin ist eine krystallisierte, neutrale, in Wasser und verdünnter Säure unlösliche Verbindung.

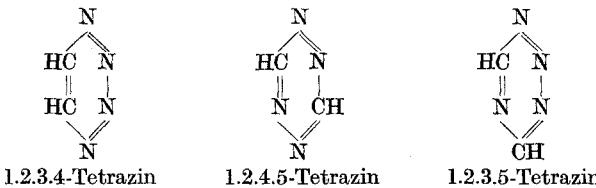
In ähnlicher Weise konnte die Polymerisation des Cyanameisensäureesters zur Tricarbonsäure des 1,3,5-Triazins geführt werden. Aus dieser hat Ott über das Amid das entsprechende Trinitril bereitet, das als Trimeres des Dicyans Interesse besitzt:



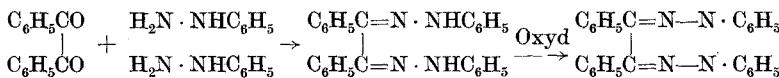
Hexacyan ist fest; Smp. 119°. Sehon durch Wasser lässt es sich zu Cyanursäure verseifen.

Tetrazine.

Die heterocyclischen Sechsringssysteme mit 4 Stickstoffatomen bilden eine kleine, aber wegen ihres hohen Stickstoffgehaltes bemerkenswerte Körpergruppe. Man kennt Derivate des 1,2,3,4-Tetrazins und des 1,2,4,5-Tetrazins, während 1,2,3,5-Tetrazine bisher nicht dargestellt werden konnten:

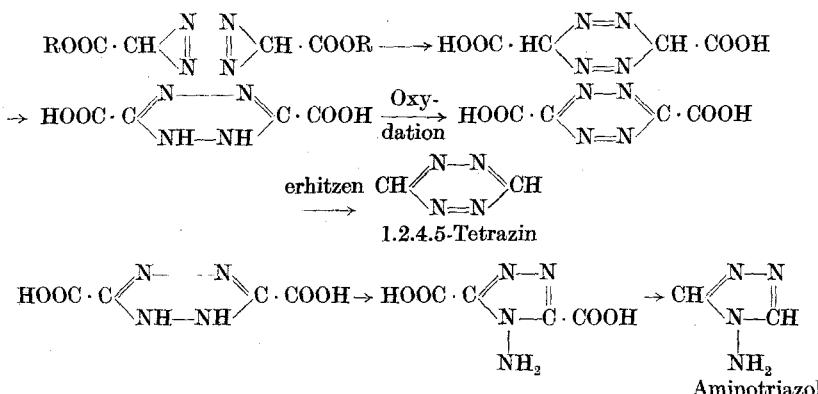


Dihydro-1,2,3,4-Tetrazinverbindungen, sog. Osotetrazine, erhält man durch Oxydation von Osazonen, die sich von Dicarbonylverbindungen ableiten (*v. Pechmann*).



Osotetrazine können durch Reduktionsmittel wieder in Osazone aufgespalten werden. Basischen Charakter besitzen sie nicht. Beim Kochen mit Säuren erleiden sie Ringverengerung und gehen in Triazolderivate über.

Zum Aufbau von 1.2.4.5-Tetrazinen haben zuerst die reaktionsfähigen aliphatischen Diazokörper gedient (*Curtius, Hantzsch*). Diazoessigester verwandelt sich unter dem Einfluß starker Lauge in ein dimeres Produkt, die N,N-Dihydrotetrazindicarbonsäure. Sie läßt sich leicht zur Tetrazindicarbonsäure oxydieren; wenn man letztere erhitzt, zerfällt sie in Kohlensäure und 1.2.4.5-Tetrazin:



Dieses Tetrazin krystallisiert in dunkelroten Säulen (Smp. 99°). Es ist sehr flüchtig und leicht zersetzblich. In Wasser löst es sich mit neutraler Reaktion und tiefroter Farbe.

Beachtung verdient die mit Leichtigkeit vor sich gehende Isomerisation der Dihydro-1.2.4.5-Tetrazine zu 1.2.4-Triazolen. So lagert sich die vorstehend erwähnte N,N-Dihydrotetrazindicarbonsäure beim Kochen mit Alkali in N⁴-Amino-1.2.4-triazol-3.5-dicarbonsäure um, aus der man durch Kohlensäureabspaltung N⁴-Amino-1.2.4-triazol erhält (von Dr. Julius Schuster [1926]).

IV. Stoffe, welche in der Insulinshocktherapie eine Rolle spielen.

Stickstoffhaltige Derivate von Zuckern treten in der Natur unter den drei lebenswichtigen Klassen organischer Verbindungen auf: als gerüstbildendes höhermolekulares Kohlehydrat Chitin, als Eiweißkomponente in den Glykoproteiden und Nucleoproteiden und als Bestandteil der Cerebroside der Gehirn- und Nervensubstanz.

Das Chitin wurde in der Zellmembran von Pilzen¹ und verschiedenen Bakterien² beobachtet. Es findet sich in den Hornflügeln von Insekten,

¹ B. 28, 821. — Mo. 29, 1023. — ² Biochemie. J. 26, 1934, 1946.

z. B. Maikäfern¹. Ein ergiebiges Ausgangsmaterial für seine Gewinnung bilden die Panzer von Crustaceen wie Hummer, Krebs². Über den Identitätsnachweis von pflanzlichem und tierischem Chitin s. Z. physiol. Chem. 223, 53.

Mit überkonz. Salzsäure in der Kälte wird aus dem hochmolekularen Chitin ein amorphes Chitodextrin von geringerer Kettenlänge gewonnen³; die Hydrolyse mit kalter konz. HCl und folgende milde Acetylierung, sowie die direkte Acetylolyse liefern dagegen ein krystallisiertes Chitobiase-oktacetat $C_{28}H_{40}O_{17}N_2$ von 1.4 oxydische Struktur neben höhermolekularen Acetaten wie Chitotriose-undecaacetat $C_{40}H_{57}O_{24}N_3$, während die enzymatische Spaltung durch Schneckenferment erst beim N-Acetyl-chitosamin, F. 190°, halt macht⁴; dieses zerfällt durch heiße konz. HCl in Essigsäure und Chitosamin $C_6H_{13}O_5N_3$. Die Identifizierung des letzteren als α -Aminozucker gelang einerseits durch Darstellung des entsprechenden Pyrazins⁵ und Imidazolderivates⁶, andererseits durch Überführung in α -Amino-capronsäure⁷ über Glucosaminsäure⁸. Aus der Bildung eines quaternären Trimethylaminsalzes⁹, sowie aus dem Nachweis des d-Glucosazons, F. 2110, als Hauptprodukt der Desaminierung des Chitosamins¹⁰ folgt seine Glucose Konfiguration. Der Abbau des Chitins gelingt auch durch einen in Pilzauszügen¹¹ und im Emulsin der bitteren Mandeln¹² enthaltenen Enzymkomplex, bestehend aus einer Chitinase und einer β -Glucosidase¹³. Nach neueren Arbeiten sollen dem Molekül des Chitins ($C_{30}H_{50}O_{19}N_4$) x Elementarbansteine zugrunde liegen, die aus 3 Mol. Acetylaminoglucose und 1 Mol. Aminoglucose bestehen¹⁴; die Verknüpfungsart der Aminozucker untereinander ist noch nicht restlos geklärt. Da Chitin kein Reduktionsvermögen besitzt, andererseits durch salpetrige Säure das ganze Molekül zerstört wird, schließt man auf eine Beteiligung der Aldehyd- und Aminogruppe an der Bindung. In gewissem Widerspruch zu dieser Auffassung steht das Auftreten von Chitopyrrol (1-[n]-Hexyl-2-methyl-pyrrol) $C_{11}H_{19}N$ bei der Zinkstaubdestillation des Chitins¹⁵. Durch röntgenographischen Vergleich von Chitin und Cellulose wurde die 1,4 Struktur sowie die β -glucosidische Bindungsart ermittelt¹⁶.

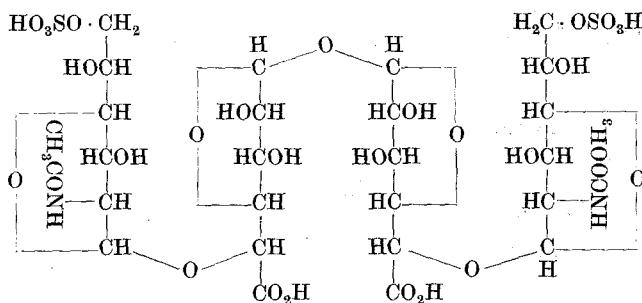
Lycoperdin $C_{13}H_{24}O_9N_2$ ist aus einer Lycoperdonart erhalten worden. Es reduziert *Fehlingsche* Lösung und zeigt Biutreaktion; die Hydrolyse ergibt 2 Mol. Glucosamin und 1 Mol. Ameisensäure¹⁷.

¹ J. pr. Chem. 29, 323. — ² B. 9, 1200. — ³ B. 65, 1706. — B. 64, 2028, 2436; 65, 161. — N. 19, 20. — ⁴ Mo. 23, 123. — Helv. 12, 616, 986. — Synthese s. B. 64, 975; 65, 1201. — B. 17, 241. — Biochem. Z. 43, 501. — ⁵ Rec. 18, 77. — ⁶ B. 34, 3840. — ⁷ B. 35, 4009; 64, 2428. — ⁸ B. 27, 138; 35, 3787. — ⁹ B. 65, 253. — ¹⁰ B. 19, 50; 66, 522. — ¹¹ A. 503, 174. — ¹² B. 65, 1706. — Z. physiol. Chem. 209, 269. — ¹³ B. 67, 1. — ¹⁴ Soc. 95, 564; 105, 698. — ¹⁵ Helv. 5, 832. — ¹⁶ Meyer, K. H. u. H. Mark: Der Aufbau der hochpolymeren organischen Naturstoffe. Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft m. b. H. 1930. — ¹⁷ Z. physiol. Chem. 88, 56.

Unter *Glykoproteiden*¹ versteht man eine Gruppe von Proteinen, die aus Eiweiß und einer Aminozucker enthaltenden Komponente zusammengesetzt sind². Man unterscheidet die Mucine durch ihre Fällbarkeit mit Säuren von den säurelöslichen Mucoiden. Zur Spaltung der Glykoproteide kann mit Vorteil die Pepsinverdauung verwendet werden. Vom chemischen Gesichtspunkt aus lassen sich die Glykoproteide einteilen in solche, die bei der Hydrolyse neben Eiweiß a) Chondroitin- oder Mucoitinschwefelsäure oder b) eine schwefelfreie Aminozuckerkomponente liefern.

Die Synthese von Glykopeptiden gelingt durch Kondensation von Acetohalogenosen mit Aminosäureestern oder Peptiden³, sowie durch Umsetzung von O-acylierten Aminozuckern mit N-Carbobenzyoxyamino-säurechloriden⁴ oder Azido-fettsäurehalogeniden⁵.

Chondroitinschwefelsäure $C_{28}H_{44}O_{29}S_2N_2$ oder $C_{34}H_{54}O_{34}S_2N_2$, aus dem Chondromucoid der Knorpeln, Sehnen und Knochen, zerfällt bei totaler Hydrolyse mit verd. Säuren in Chondrosamin (isomer mit Chitosamin), Glucuronsäure, Essigsäure und Schwefelsäure⁶. Die partielle Abspaltung der Schwefelsäure gelingt durch milde Hydrolyse mit Chondrosulfatase aus *Bact. fluorescens*⁷ und führt zu Chondroitin; aus diesem wird auch der Acetatrest leicht abgespalten und Chondrosin $C_{12}H_{21}O_{11}N$ gebildet; energische Behandlung erfordert die Abtrennung der Glucuronsäure aus letzterem zu Chondrosamin $C_6H_{13}O_5N^*$. Aus den Reaktionen der Chondroitinschwefelsäure wurde folgende schematische Formel abgeleitet⁸:



(Konfiguration der Galaktose und der Glucuronsäure.) Die *Mucoitinschwefelsäure* ist aus den Schleimen der Respirations- und Verdauungsorgane, aus dem Mucoïd des Auges, aus Frosch- und Fischlaich und Schnekkenschleim gewonnen worden. Sie ist analog der Chondroitinschwefelsäure aufgebaut, nur enthält sie als Aminozucker Glucosamin⁹.

¹ Kestner, O.: Chemie der Eiweißkörper. Braunschweig: F. Vieweg & Sohn 1925.
² Z. physiol. Chem. **136**, 82. — ³ Z. physiol. Chem. **206**, 125. — ⁴ B. **64**, 975; **65**, 1201. — ⁵ A. **485**, 127; **495**, 113. — Z. physiol. Chem. **222**, 139; **223**, 139. — ⁶ J. of biol. Chem. **36**, 105. — ⁷ N. **19**, 484. — * 2-Amino-galaktose, Lyxohexosamin s. Biochem. Z. **124**, 57. — J. of. biol. Chem. **57**, 337. — C. **1917 I**, 875; Synthese durch Reduktion der Lyxohexosaminsäure s. C. **1921 I**, 614. — ⁸ C. **1915 I**, 1127.
⁹ J. of. biol. Chem. **36**, 105.

Ein Vertreter der zur Untergruppe b gehörenden schwefelfreien Glykoproteide ist das Ovomucoid aus Eieralbumin¹; durch Pepsin-HCl wird es in Glucosamin und Essigsäure gespalten². Auch in den Eihüllen von Tintenfischen (Cephalopoden) und Gallertrischwamm (Chandrosia reniformis) wurde kohlehydrathaltiges Eiweiß gefunden.

Das Serumprotein enthält ein stickstoffhaltiges Trisaccharid, bestehend aus 1 Mol. Glucosamin und 2 Mol. Mannose³.

Hyaloidin $C_{26}H_{46}O_{20}N_2$, aus Ovarialschleim, liefert beim hydrolytischen Abbau 2 Mol. Glucosamin, 2 Mol. Hexose und Essigsäure⁴.

Ein höhermolekulares Kohlehydrat Sinistrin, bei dessen Hydrolyse Galaktose gebildet wird⁵, ist aus dem Proteid der Weinbergschnecken-drüse, sowie aus dem Schleim der Meerzwiebel (Bulbus scillae) isoliert worden⁶.

In den Hydrolysaten des *Tussah-seidenfibroins* konnte Chitosamin nachgewiesen werden⁷.

Eine wichtige Klasse stickstoff- und phosphorhaltiger Glykoside sind ferner die schon kurz erwähnten

Nucleinsäuren.

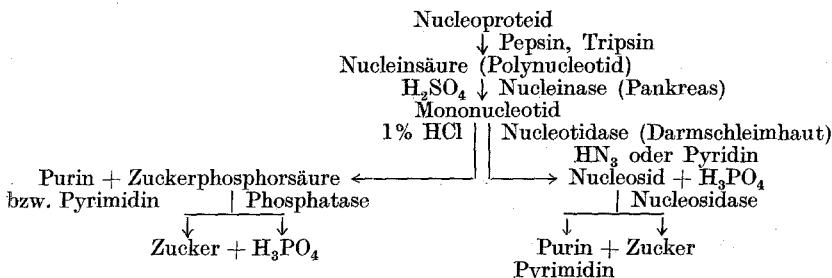
Sie finden sich frei⁸ oder gebunden an Eiweiß (Histon, Protamin, Clupein) als „Nucleoproteide“ in fast allen tierischen und pflanzlichen Zellkernen⁹, sowie im Krebsgewebe, ferner in wichtigen Drüsen (Thymus, Pankreas); sie spielen wahrscheinlich auch eine Rolle als Träger von Fermenten (z. B. Trypsin). Auch aus Bakterien und Pilzen (Hefe) sind sie isoliert worden. In den Weizenkeimlingen ist die Triticonucleinsäure enthalten.

Die Mononucleotide, welche, esterartig zu Polynucleotiden verknüpft, die Nucleinsäuren bilden und deren selbständiges natürliches Vorkommen (Muskel, Hefe usw.) verschiedentlich beobachtet wurde, sind zum Teil als Co-Fermente lebenswichtiger, enzymatischer Vorgänge¹⁰ erkannt worden, sie bewirken auch eine Frequenzbeschleunigung der Herzaktivität¹¹.

Man hat auch Spaltprodukte der Mononucleotide, Zuckerderivate der Pyrimidin- und Purinreihe (sog. Nucleoside), in der Natur aufgefunden.

Die totale Hydrolyse der Nucleinsäuren führt zu Purinen, Pyrimidinen, Zuckern (vorwiegend Pentosen) und Phosphorsäure. Das Schema des partiellen Abbaues lässt sich folgendermaßen skizzieren:

¹ Z. physiol. Chem. **34**, 207. — J. of biol. Chem. **84**, 49, 63. — ² Z. physiol. Chem. **68**, 173; **80**, 430. — ³ Biochemic. J. **23**, 430; **25**, 1062. — J. of biol. Chem. **84**, 63. — ⁴ Arch. Z. exper. Path. **87**, I. — ⁵ C. **1931** I, 3695. — ⁶ C. **1931** I, 1323. — ⁷ Z. physiol. Chem. **202**, 37. — ⁸ Z. physiol. Chem. **133**, 165. — ⁹ Z. physiol. Chem. **25**, 165; **48**, 299; **130**, 136. — ¹⁰ Muskelkontraktion s. Z. physiol. Chem. **167**, 137; **179**, 149. — N. **19**, 180. — Alkoholische Gärung s. Z. physiol. Chem. **214**, 184 usw. — ¹¹ Z. angew. Chem. **46**, 202. — Z. physiol. Chem. **218**, 12.



Die Spaltungsmöglichkeit der Nucleotide, sowohl zum Purin- bzw. Pyrimidin-glykosid als auch zu Zuckerphosphorsäure beweist die Verkettung ihrer Bausteine im Sinne:

Purin- bzw. Pyrimidin-Zucker-Phosphorsäure.

Die Purine sind wesentlich leichter von dem Komplex abzulösen als die Pyrimidine¹; ihre Verknüpfung mit dem Kohlehydrat ist in 7-Stellung des Purinkerns anzunehmen², die der Pyrimidine am Stickstoffatom 3*. Das Kohlehydrat³ ist glucosidartig mit der Base vereinigt, da weder die Nucleinsäuren noch die Nucleoside reduzierende Wirkung zeigen. Für den tierischen Organismus scheint Thymin⁴ als Komponente spezifisch; für das Tumorgewebe das Fehlen des Cytosins⁵. Der Unterschied zwischen pflanzlichen und tierischen Nucleotiden beruht möglicherweise auf der verschiedenen Bindung von Pentose und Phosphorsäuren; erstere liefern 60—75 % Furfurol, letztere nur 8—11 %. In den Tetranucleotiden (z. B. Hefe- und Thymus-nucleinsäure) spricht das Auftreten von zwei Di-phosphorsäure-nucleosiden als Spaltstücke und die elektrometrische Titration⁷ für die Verbindung der vier Nucleotide durch drei ihrer Phosphorsäurereste und es lässt sich aus der Verseifungsgeschwindigkeit schließen, daß die Phosphorsäure an einer sekundären Hydroxylgruppe des Zuckers eingreift⁸.

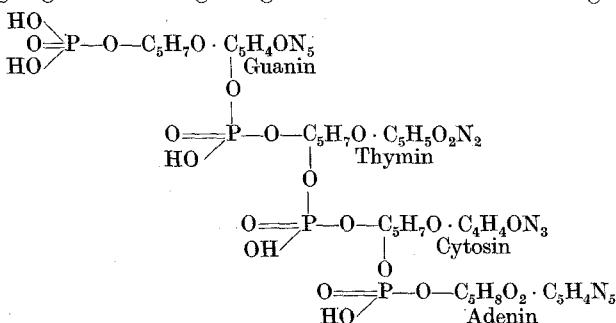
Die Thymusnucleinsäure C₃₉H₅₁O₂₅N₁₅P₄ findet sich außer in der Thymusdrüse in zahlreichen anderen Organen und Geweben. Schon das Auftreten vier verschiedener Basen (Guanin, Adenin, Thymin und Cytosin) in äquimolekularem Verhältnis bei totaler Säurehydrolyse deutete auf tetranucleotidische Struktur⁹; sie wurde durch die Entwicklung schonenderer Abbauverfahren bestätigt. Die Spaltung nach dem Pikrinsäureverfahren¹⁰ liefert Guanin- und Adenin-pikrat; als Brucin-

¹ Z. physiol. Chem. 48, 425; 102, 244. — Amer. J. Physiol. 21, 157. — C. 1928 II, 1343. — ² Z. physiol. Chem. 60, 69. — B. 44, 746. — * Z. angew. Chem. 47, 292. —

³ Nachweis seiner furanoiden Struktur mittels Tritylchlorids s. B. 65, 1830; 66, 198; oder durch Spaltung des permethylierten Komplexes zu 2,3,5-Trimethyl-pentose s. C. 1932 II, 2824. — ⁴ 5-Methyluracil, Bd. I, S. 696. — ⁵ 2-Oxy-6-amino-pyrimidin, Bd. I, S. 696. — ⁶ Z. physiol. Chem. 181, 130; 200, 82; 216, 77. —

⁷ C. 1927 I, 404. — ⁸ C. 1930 I, 2899. — ⁹ Z. physiol. Chem. 49, 406. — Biochem. Z. 10, 215. — ¹⁰ Z. physiol. Chem. 114, 39. — C. 1927 I, 913.

salze wurden Uridin- und Cytidindiphosphorsäure isoliert. Die Hydrolyse mit Hundedenndarmsekret ergab die Nucleoside von Guanin, Adenin bzw. Hypoxanthin, Thymin und Cytosin¹; unter Ausschaltung der Phosphatasewirkung jedoch, durch Zusatz von Phosphat, Arsenat gelang durch das Ferment der Darmschleimhaut „Thymonucleinase“ eine Depolymerisation der Nucleinsäure zu den entsprechenden Mononucleotiden². Das Kohlehydrat der Thymusnucleinsäure, die Thymnose $C_5H_{10}O_4$, konnte als 2-Desoxy-ribose identifiziert werden³. Den neueren Forschungsergebnissen trägt folgendes Formelbild Rechnung:



Die *Nucleinsäure des Krebsgewebes* wurde durch Natronlauge in zwei Nucleotide zerlegt $C_{48}H_{64}O_{32}N_{10}P_2$ und $C_{38}H_{45}O_{23}N_7P_2$; aus ersterem konnte Guanin und Adenin, aus letzterem Guanin und Thymin gewonnen werden. Das im normalen tierischen Gewebe auftretende Cytosin ist unter den Hydrolysaten nicht beobachtet worden⁴.

Aus *Pankreas-nucleoprotein* ist ein aus 1 Mol. Thymusnucleinsäure und 2 Mol. Guanylsäure ($C_{10}H_{14}O_8N_5P$) Guaninribose-phosphorsäure), F. 180°, D — 7,50, zusammengesetztes Nucleotid dargestellt worden⁵.

Eine *Hexose-nucleinsäure aus Hühnerembryonen* ist C. 1928 II, 1896 beschrieben.

Auch die *Tuberkulinsäure*, die Nucleinsäure des Tuberkelbacillus⁶, gehört dem Typ der tierischen Nucleinsäuren (Thymingehalt) an. An Basen wurden Guanin, Adenin, Cytosin und 5-Methylcytosin isoliert⁷; die Nucleinsäure enthält eine Hexose⁸.

Neuerdings wird auch das Diphtherie-toxin als Nucleoprotein angesprochen⁹; es enthält die Spaltstücke der tierischen Nucleinsäuren¹⁰.

In der *Nucleinsäure der stickstoffbindenden Bakterien* (Azotobakter) sind außer Phosphorsäure und Kohlehydrat Adenin, Guanin und Pyrimidinbasen aufgefunden worden¹¹.

¹ J. of biol. Chem. 81, 711; 83, 793; 88, 753; 96, 461. — Z. physiol. Chem. 186, 13; 189, 174; 207, 202, 224, 244. — ² Z. physiol. Chem. 207, 125; 218, 164, 173; 224, 252. — ³ J. of biol. Chem. 85, 785. — ⁴ C. 1926 I, 3236; 1930 I, 1631. —

⁵ Z. physiol. Chem. 53, 539; 68, 40; 126, 250. — C. 1924 II, 2857; 1928 II, 1343. —

⁶ Z. physiol. Chem. 26, 218. — ⁷ C. 1926 I, 1189. — ⁸ C. 1924 I, 1207. — ⁹ C. 1928 I, 1973.

¹⁰ C. 1932 I, 3307. — ¹¹ C. 1924 II, 1355.

Die Aufarbeitung der *Nucleinsäure* der Timotheegras-bakterien ergab an Spaltstücken Adenin, Guanin, Uracil, Cytosin, Pentose und Phosphorsäure¹.

Die Hefenucleinsäure $C_{38}H_{49}O_{29}N_{15}P_4$, ergab bei energischer Hydrolyse die Basen Adenin, Guanin, Cytosin, Uracil, 4 Mol. d-Ribose und 4 Mol. Phosphorsäure, außerdem die Nucleotide und Nucleoside des Cytosins und Uracils². Die schonende ammoniakalische oder fermentative Hydrolyse, die nur Phosphorsäureanhydridbindungen spaltet, liefert, 1 Mol. Uridinphosphorsäure $C_9H_{13}O_9N_2P$, F. 202°, D + 10,5° und 2 Mol. Triphospho-nucleinsäure $C_{20}H_{38}O_{21}N_{13}P_3$ *; letztere wird durch Pikrinsäurespaltung in die Pikrate des Guanins und Adenins, Phosphorsäure und Cytidinphosphorsäure ($C_9H_{14}O_8N_3P$, F. 233°, Zers. [α]_D) + 40° zerlegt³. Zum Unterschied von Thymusnucleinsäure wird die Hefenucleinsäure durch verdünntes Alkali leicht zu mononucleotiden der oben genannten Basen aufgespalten. Das Kohlehydrat der Nucleinsäure, die d-Ribose, besitzt Furanoestruktur⁴. Als Haftstelle des Phosphorsäureesters in der Cytidyl- und Uridyl-phosphorsäure ist neben Analogiegründen das C. Atom 3 der Ribose anzunehmen, weil die Mononucleotide Tritylverbindungen liefern und die Leitfähigkeit der Borsäure nicht erhöhen⁵. Vorläufiges, dem der Thymusnucleinsäure entsprechendes Konstruktions-schema auf Grund von Titrationsergebnissen s. J. of biol. Chem. 70, 332.

Eine *Nucleinsäure* aus dem Mycel von Aspergillus Oryzae enthält an basischen Komponenten Guanin, Adenin, Hypoxanthin (?) und Uracil⁶.

Die Tritico-nucleinsäure aus Weizenkeimen liefert dieselben Basenspaltstücke wie Hefenucleinsäure⁷.

Die Adenosin-triphosphorsäure des Muskels⁸ und des Protoplasmas wird durch alkalischen Muskelbrei fermentativ in Adenylsäure, die sie im tierischen Gewebe begleitet, und 2 Mol. Phosphorsäure zerlegt⁹; in wässrigem Medium dagegen findet die Abspaltung von Ammoniak rascher statt als die der Phosphorsäure und ist daher Inosin-triphosphorsäure isolierbar¹⁰, die unter energischeren Bedingungen weiter in Inosinsäure und 2 Mol. Phosphorsäure zerfällt¹¹. Im Nucleotid, das noch die freie Aminogruppe des Adenins nachweisen läßt und das 4 titrierbare Hydroxyle enthält¹², muß außer der fester gebundenen o-Phosphorsäure ein hydrolytisch leicht ablösbarer Pyrophosphatkomplex angenommen werden¹³; gestützt auf die Auffindung von Pyrophosphat im Muskel und in Hydrolysaten bei schwach alkalischer Reaktion¹⁴; als Zucker-

¹ C. 1931 I, 3249. — ² B. 42, 1198, 2473; 44, 1027. — J. of biol. Chem. 41, 19; 43, 379. — C. 1927 II, 2063. — * Z. physiol. Chem. 109, 177; 112, 187. —

³ Z. physiol. Chem. 131, 296; 133, 165. — B. 42, 2474, 2703. — ⁴ Z. physiol. Chem. 223, 61. — ⁵ Z. physiol. Chem. 224, 79. — ⁶ C. 1930 I, 605. — ⁷ Z. physiol. Chem. 36, 84; 135, 203. — B. 43, 3164. — J. of. biol. Chem. 31, 295. — C. 1928 II, 989. —

⁸ N. 17, 624. — ⁹ Biochem. Z. 249, 157. — ¹⁰ Biochem. Z. 254, 381. — ¹¹ Z. physiol. Chem. 179, 280. — Biochem. Z. 253, 431. — ¹² Biochem. Z. 254, 381. — ¹³ Biochem. Z. 250, 181. — ¹⁴ N. 16, 298; 17, 624. — Biochem. Z. 202, 466; 203, 164.

komponente wird eine Pentose wahrscheinlich gemacht. Das quantitative Bestimmung der Säure gelingt durch kurze Behandlung mit Salzsäure in der Hitze und Bestimmung der leicht abspaltbaren Phosphorsäure (2 Mol.) und der Pentose¹.

Die Adenyl-pyrophosphorsäure ist als Vorstufe der tierischen Adenylsäure zu betrachten und spielt als Co-Ferment der Milchsäurebildung im Muskel eine wichtige Rolle².

Die Adenylsäure $C_{10}H_{14}O_7N_5P$, H_2O , tritt in der Natur in zwei isomeren Formen (t) und (h) auf, die sich wenig in ihren physikalischen Konstanten (Schmelzpunkt, Drehung und Löslichkeit), um so deutlicher aber in ihrem chemischen Verhalten, wie Komplexbildung, Desamidierung³, Hydrolyse und Säuredestillation voneinander unterscheiden. Physiologisch entfaltet die t-Adenylsäure eine etwa 10mal stärkere Wirksamkeit auf das Herz des Meerschweinchens als das h-Isomere⁴.

t-Adenylsäure, (Adenin-furanribosid-5-phosphorsäure), F. 195°, $[\alpha] D -37,9^\circ$, zuerst aus Muskelgewebe⁵ später auch aus Hefe⁶ gewonnen, spaltet hydrolytisch viel langsamer Phosphorsäure ab als die h-Säure, auch zeigt sie bei Destillation mit Säuren wesentlich geringere Furfurolausbeute⁷. Aus der Bildung eines komplexen Kupfersalzes, welche zwei benachbarte Hydroxyle der Ribose voraussetzt, folgt für die Bindung der Phosphorsäure am Zuckermolekül die 5-Stellung⁸, die auch für das Desaminierungsprodukt der Muskel-adenylsäure, die Inosinsäure, ermittelt worden ist⁹.

h-Adenylsäure (Adenin-furanribosid-3-phosphorsäure), F. 195° $[\alpha] D -40,5^\circ$, aus Hefehydrolysat¹⁰, Teeblättern¹¹, auch aus Pankreasnukleotid¹² wird durch Desamidase zum Unterschied von der t-Form nicht angegriffen¹³. Aus Analogiegründen war für die Haftstelle der Phosphorsäure an der Ribose die 3-Stellung zu bevorzugen, da die Guanylsäure aus Hefenucleinsäure eindeutig als Guanin-furanribosid-3-phosphorsäure identifiziert wurde¹⁴. Tatsächlich konnte auch durch Desaminierung der h-Adenylsäure mit HNO_2 und folgende Hydrolyse d-Ribose-3-phosphorsäure erhalten werden¹⁵.

Bemerkenswert ist, daß das aus Hefe isolierte reine Co-Enzym der alkoholischen Gärung^{16, 17} und das wahrscheinlich mit ihm identische

¹ Z. physiol. Chem. **216**, 205. — ² N. **19**, 180. — ³ Bedeutung für enzymatischen Stoffwechsel im Muskel s. Z. physiol. Chem. **179**, 149—237. — ⁴ Z. physiol. Chem. **218**, 12. — ⁵ Z. physiol. Chem. **167**, 136. — Biochem. Z. **252**, 392; **254**, 65. — ⁶ Z. physiol. Chem. **218**, 12. — ⁷ Z. physiol. Chem. **216**, 77. — ⁸ Biochem. Z. **252**, 392. — Z. Physiol. Chem. **216**, 77; **217**, 75. — ⁹ B. **41**, 2703; **42**, 335. — C. **1932 I**, 3412. — ¹⁰ Z. physiol. Chem. **127**, 265; **216**, 77. — ¹¹ C. **1926 II**, 1052. — ¹² Z. physiol. Chem. **218**, 12. — ¹³ Z. physiol. Chem. **181**, 130. — ¹⁴ C. **1933 I**, 1112. — ¹⁵ C. **1933 II**, 2973. — ¹⁶ Haldane, J. u. K. Stern: Allgemeine Chemie der Enzyme, S. 193—196. Dresden u. Leipzig: Theodor Steinkopff 1932. — Myrbäck, M.: Erg. Enzymforsch. **2**, 5, 139—168 (1933). — ¹⁷ Proc. roy. Soc. Lond. B. **77**, 405. — Z. angew. Chem. **44**, 583. — Z. physiol. Chem. **168**, 177; **199**, 189; **212**, 7.

Co-Ferment der Milchsäureoxydation des Herzmuskels^{1, 2} die t-Adenylsäure als Hauptkomponente enthalten³. Dementsprechend läuft die fermentative Phosphorsäureabspaltung der Inaktivierung der Co-Cymase parallel⁴. Auch hinsichtlich der Ultraviolettabsoption des Co-Enzyms herrscht weitgehende Übereinstimmung mit jener der genannten Nucleotide⁵.

Die Inosinsäure $C_{10}H_{13}O_8N_4P$ (Hypoxanthin-ribose-5-phosphorsäure), findet sich im Muskel und ist aus Fleischextrakt darstellbar⁶.

Über Guanylsäure $C_{10}H_{14}O_8N_5P$, 2 H_2O , F. 180°, aus Pankreas s. J. of biol. Chem. 41, 483. — Z. physiol. Chem. 109, 141, 111, 257; 118, 224, und aus Thymus s. Z. physiol. Che. 108, 147; 120, 292.

Außer den Nucleinsäuren kommen auch die Nucleoside (Purin, bzw. Pyrimidin-Zuckerverbindungen) in der Natur vor: Vernin $C_{10}H_{13}O_5N_5$, F. 240°, [α] D — 60,4°, ein Nucleosid aus jungen Pflanzen von Vicia, Lupinus, Cucurbita ist als Guanin-d-ribosid erkannt worden⁷.

In den Samenkörnern von Croton tiglium ist das isomere Crotonosid $C_{10}H_{13}O_5N_5$, 2 H_2O , F. 248° (Zers. [α] D — 60,38°) (NaOH) enthalten; es zerfällt hydrolytisch in Isoguanin (2-Oxy-6-aminopurin und d-Ribose)⁸.

Adenosin ($C_{10}H_{13}O_4N_5$, 1½ H_2O) Adenin-ribosid [α] D — 60°, ist aus dem Herzmuskel isoliert worden⁹.

Inosin (Carnin) $C_{10}H_{12}O_5N_4$ F. 218°, [α] D — 72,9°, aus Fleischextrakt, Hefe, Zuckerrüben, ist Hypoxanthin-ribosid¹⁰.

Vicin, $C_{10}H_{16}O_7N_4$, H_2O (i-Glucosido-4.6-dioxy-2.5-diamino-pyrimidin), F. 242°, [α] D — 8,77° aus den Samen von Vicia faba und sativa, zerfällt beim Kochen mit verdünnten Säuren in Divicin $C_4H_6O_2N_4$ (4.6-Dioxy-2.5-diamino-pyrimidin), Ammoniak und Glucose¹¹. Die in Indien und den Mittelmeerlandern vorkommende, *paralyseähnliche*, als *Lathyrismus* bezeichnete Krankheit der Eingeborenen wird auf den Genuss der häufig der Pflanzennahrung beigemengten Vicia sativa bzw. des Dicvijins zurückgeführt¹².

In den älteren Pflanzen findet sich das Convicin $C_{10}H_{15}O_8N_3$, H_2O , Zers. 287°*, welche hydrolytisch in Alloxantin $C_8H_6O_8N_4$, Ammoniak und Glucose gespalten wird¹³.

Von synthetischen Versuchen sind folgende zu erwähnen: Pyrimidin-glucoside wurden erhalten durch Umsetzung von 2.6-Dimethoxy-pyrimidin

¹ Haldane, J. u. K. Stern: Allgemeine Chemie der Enzyme, S. 193—196. Dresden u. Leipzig: Theodor Steinkopff 1932. — Myrbäck, M.: Erg. Enzymforsch. 2, S. 5, 139—168 (1933). — ² Biochem. Z. 157, 50. — Z. physiol. Chem. 217, 39. — ³ Z. physiol. Chem. 125, 131, 199; 220, 173; 225, 57. — ⁴ Z. physiol. Chem. 217, 249. — ⁵ Z. physiol. Chem. 214, 184. — ⁶ A. 62, 257. — Mo. 30, 377. — B. 44, 746. — Biochem. Z. 28, 127. — Z. physiol. Chem. 211, 253. — ⁷ Z. physiol. Chem. 70, 143; 120, 126; 223, 61. — ⁸ Helv. 15, 464, 978. — ⁹ C. 1930 I, 256. — Z. physiol. Chem. 223, 61. — ¹⁰ Mo. 29, 157. — B. 41, 2703; 42, 335, 1198. — Z. physiol. Chem. 223, 61. — ¹¹ Z. physiol. Chem. 105, 258. — C. 1914 I, 1582; 1914 II, 1198; 1917 I, 324. — B. 47, 264, 1304. — ¹² C. 1926 I, 165. — * J. pr. Chem. 59, 487. — B. 29, 2106. — C. 1899 II, 125. — Am. 36, 337. — ¹³ C. 1932 II, 1180.

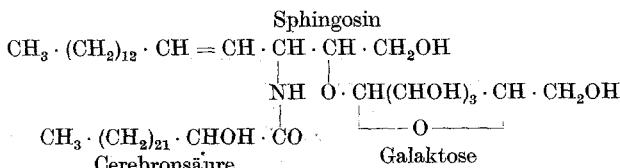
mit Acetobromglucose; die Verseifung mit Salzsäure führte zu 3-Glucosidouracil $C_{10}H_{14}O_7N_2$, F. 209° (Zers.), $[\alpha] D + 21,4^*$. Über die analoge Synthese von 2- oder 6-Xylosido-uracil s. C. 1926 I, 1190, 3464; 1927 I, 1023.

Durch Einwirkung von I-Brom, 3.4.6-tribenzoyl-d-glucodesose auf Theophyllinsilber und Entbenzoylierung des Reaktionsproduktes bildet sich Theophyllin-d-glucodesosid $C_{13}H_{18}O_6N_4$, F. 258°, $[\alpha] D -26,9^\circ$ s. b. 1931 II, 2623. Analoge Synthese des Theophyllin-glucosids und rhamnosids s. B. 47, 210, 1058, 1390; 53, 17, 2327, des 7-Theophyllin-xylosids und -ribosids s. C. 1926 I, 1190, des Theophyllin-l-arabinosids s. C. 1933 II, 1084; desgleichen sind Adenin-d-glucosid und Hypoxanthin-d-glucosid synthetisch zugänglich.

Die Synthese einer einfachen Nucleinsäure wurde ausgehend von Theophyllin-d-glucosid und POCl_3 bei -20° — in Pyridin erreicht¹.

Die *Cerebroside*², welche hauptsächlich in der Gehirn- und Nerven-substanz gefunden wurden, sind *amidartige* Verbindungen des Sphingosin-galaktosids (Psychosins) mit einer Fettsäure oder Oxysäure der C₂₄-Reihe. Ihre Spaltung mit Schwefelsäure-Eisessig führt zu Galaktose und Fettsäure-sphingosid (das bisweilen frei in der Natur auftritt), letzteres wird bei längerer Einwirkung von alkoholischer Schwefelsäure verseift; bei der Behandlung der Cerebroside mit Baryt wird nur die Amidbindung gelöst und man erhält neben der Fettsäure Sphingosin-galaktosid.

Cerebron (Phrenosin) $C_{48}H_{93}O_9N$, $2H_2O$, F. 212^0 , $[\alpha] D + 8^0$ ($CHCl_3$), 1874 zuerst von Thudichum aus Gehirn (Cerebrum) isoliert, findet sich auch in der Nervensubstanz u. a. Organen von Säugetieren. Vögeln und Fischen. Seine Hydrolyse ergibt Cerebronsäure $C_{24}H_{48}O_3$, F. 108^0 (α -Oxy-lignoc-erinsäure s. Z. physiol. Chem. 215, 79). Sphingosin $C_{18}H_{37}O_2N$ (Triacetat, F. 100^0 ; Ozonspaltung zu Myristinsäure und α -Amino- β , γ -dioxy-buttersäure s. Z. physiol. Chem. 198, 251. — B. 65, 1211) und Galaktose $C_6H_{12}O_6$ ³. Die partielle Hydrolyse mit Baryt einerseits liefert Psychosin⁴ $C_{24}H_{47}O_7N$, F. 215^0 , und Cerebronsäure, mit Schwefelsäure andererseits Cerebronylsphingosin $C_{42}H_{83}O_4N$, F. 84^0 , und Galaktose. Die Konstitution des Cerebrons lässt sich durch folgende Formel zum Ausdruck bringen⁵:



* C. 1931 I, 286. — ¹ Fischer, E.: B. 47, 3197. — ² Thiersfelder, H. u. E. Klenk: Die Chemie der Cereborside und Phosphotide. Berlin: Julius Springer 1930. — ³ Z. physiol. Chem. 44, 366; 179, 312. — ⁴ Sphingosingalaktosid. Z. physiol. Chem. 178, 221. — ⁵ Z. angew. Chem. 44, 591.

Die Verbindung kommt auch als Cerebron-schwefelsäure, F. 210°, in welcher ein Galaktose-schwefelsäureester vorliegt, in der Gehirnsubstanz vor¹.

Desgleichen tritt das zugrunde liegende freie Aglykon, da Cerebronyl-sphingosin (s. o.) α arin auf².

Kerasin $C_{48}H_{83}O_8N$, H_2O , F. 187° [α] D — 11,6° ($CHCl_3$), aus Gehirn, zerfällt bei totaler Hydrolyse in Kerasinsäure) Lignocerinsäure $C_{24}H_{48}O_2$, F 85°, Sphingosin und Galaktose³. Synthetisch ist es aus Galaktosido-sphingosin und Lignocerylchlorid gewonnen worden⁴.

Über das Vorkommen des Lignocetyl-sphingosins $C_{24}H_{83}O_3N$, F. 90°, in Schweineleber s. Z. physiol. Chem. 203, 183; 213, 58, und Rindermilz s. Z. physiol. Chem. 222, 39.

Gleichfalls aus Gehirn wurden die Cerebroside Nervon C_{48} , $H_{91}O_8N$, F. 180° (D — 4,33°), Pyridin⁵ und Oxy-nervon $C_{48}H_{91}O_9N$ ⁶ dargestellt. Sie ergaben bei der Hydrolyse neben Sphingosin und Galaktose Nervonsäure $C_{24}H_{46}O_2$ oder $CH_3 \cdot (CH_2)_7 \cdot CH = CH \cdot (CH_2)_{13} \cdot COOH$, cis-Form, F. 39° (Konstitution durch Überführung in Lignocerinsäure s. Z. physiol. Chem. 157, 283; Ozonabbau zu Pelargonsäure und Dicarbonsäure $C_{15}H_{28}O_4$, F. 114° s. Z. physiol. Chem. 166, 287, sowie durch Synthese aus Erucylbromid und Na-Malonester s. C. 1931 I, 1119 bewiesen) bzw. -Oxynervonsäure $C_{24}H_{46}O_3$, F. 65° (Ozonspaltung zu Pelargonsäure und Duodekan-I, 12-dicarbonsäure s. Z. physiol. Chem. 174, 214).

Vitamine I.

Die Vitamine (Name von C. Funk 1912) sind Bestandteile der menschlichen und tierischen Nahrungsmittel, die in winzigen Mengen entscheidend für die Aufrechterhaltung des Stoffwechselgleichgewichtes und damit für die Erhaltung der Gesundheit sind. Als Energielieferanten wegen ihrer geringen Menge ohne Bedeutung, greifen sie als organische Katalysatoren ein in die Abbau- und Umbauprozesse der mit der Nahrung eingeführten organischen Körperklassen oder der Mineralstoffe. Von einigen wenigen Tieren abgesehen, die die Fähigkeit besitzen, das eine oder andere der Vitamine im Organismus aufzubauen, werden die Vitamine ausschließlich von den höheren und niederen Pflanzen (Pilzen, Bakterien) aufgebaut. Einzelne Vitamine werden von der Pflanze in einer unwirksamen Vorstufe: Provitamin produziert die dann erst im tierischen oder menschlichen Organismus durch eine einfache Umänderung (Carotin-Vitamin A) oder durch Strahlungsenergie (Ultraviolettes Licht: Ergosterin-Vitamin D) in das eigentliche wirksame Vitamin verwandelt werden.

¹ Z. physiol. Chem. 219, 82. — ² Z. physiol. Chem. 153, 74. — ³ J. of Biol. Chem. 18, 477; 26, 115. — Z. physiol. Chem. 95, 161. — ⁴ Z. physiol. Chem. 189, 243. — Z. angew. Chem. 43, 674. — ⁵ Z. physiol. Chem. 145, 244. — ⁶ Z. physiol. Chem. 157, 291.

Zunächst waren es einige schon lange bekannte Krankheiten, deren Entstehung augenscheinlich mit der Ernährung zusammenhang und deren Heilung durch Umstellung der Kost möglich war, die die Aufmerksamkeit der Ärzte erregten. So weiß man mit Sicherheit, seit dem Jahre 1804, daß der bis dorthin gefürchtete Skorbut durch Verabreichung von Citronensaft vermieden bzw. geheilt werden kann? Dasselbe gilt für die Beri-beri-Erkrankung der östlichen Länder, deren Abheilung durch Zugabe von Reiskleie zur Nahrung seit 1885 durch japanische und holländische Forscher festgestellt wurde. Es dauerte jedoch lange, bis sich die klare Erkenntnis durchsetzte, daß es eine ganz bestimmte, in den Nahrungsmitteln vorhandene Verbindung ist, der die Heilwirkung zukommt.

Die auf dieser Auffassung gegründete klare Definition der Mangelkrankheit oder Avitaminose hat *Grijus* 1901 zuerst gegeben.

Die systematische wissenschaftliche Erforschung der Vitamine beginnt jedoch erst, als man lernte Mangelkrankheiten im Tierversuch künstlich zu erzeugen. Beobachtungen in dieser Richtung liegen schon vor in den Fütterungsversuchen an Ratten, die *Lunin* 1881 mit einem Gemisch der organischen und anorganischen Bestandteile der Milch ausführte¹. Diese wenig beachteten Vorläufer der systematischen Tierversuche fanden erst allgemeine Verbreitung, als *Christian Eijkman* (1897) bei Hühnern und Tauben durch Fütterung mit poliertem (sog. Overmilled) Reis künstlich Beri-beri (*Polyneuritis gallinarum*) erzeugen konnte. Es folgten die erfolgreichen Versuche von *Holst* und *Frölich* (1907) mit Meerschweinchen zur Hervorrufung von Skorbut und die Wachstumsversuche von *Stepp* (1909) mit Mäusen, später die überaus bedeutsamen Versuche mit rachitischen Ratten (*Mc.Collum*). Bahnbrechend waren ferner die Tieruntersuchungen von *Osborne* und *Mendel*, von *Hopkins*, von *Windaus* und vielen anderen.

Diese im Verlauf vieler Jahre wesentlich verfeinerten Tierversuche waren lange Zeit die einzigen Wegweiser für die Isolierung der Vitamine aus den Naturprodukten. Später sind auch charakteristische physikalische und chemische Reaktionen zur Erkennung derselben hinzugekommen, die zum Teil auch zur quantitativen Bestimmung herangezogen worden sind. So gibt das Vitamin A mit Antimontrichlorid in Chloroformlösung eine intensive Blaufärbung², das Vitamin C ist durch seine starke Reduktionswirkung gegen Silbersalze³ und 2,6-Dichlorphenolindophenol⁴ ausgezeichnet, während Vitamin A und D ein charakteristisches UltraviolettabSORPTIONSSPEKTRUM zeigen. Mit Hilfe dieser Reaktion und durch ständige Kontrolle im Tierversuch ist es gelungen, folgende Vitamine in reinem Zustand zu gewinnen und zum Teil auch ihrer Konstitution nach festzulegen:

¹ Z. physiol. Chem. 5, 31 (1881). — ² Carr-Price-Reaktion C. 1926 II, 2831. —

³ C. 1924 I, 2925; 1924 II, 1943. — ⁴ Tillmans u. Mitarbeiter: C. 1932 II, 86. — N. 1933, 314.

Vitamin A: Aus Lebertran.

Vitamin B₁: Aus Reiskleie (1929), später auch aus Hefe (1932).

Vitamin B₂: Aus Labmolken und Eiklar (1933).

Vitamin C: Aus Nebennierenrinde (1928, 1933).

Vitamin D: Aus Ergosterin (1932).

Einige andere Vitamine (B₃, B₄, Vitamin E, Antisterilitätsvitamin), sind ihrer Verbreitung nach auf Grund der Ausfallserscheinungen im Tierversuch festgelegt.

a) Fettlösliche Vitamine, A, D und E.

In der Erforschung der Vitamine finden wir öfter die Erscheinung, daß mehrere Vitamine, die durch die spätere Forschung sichergestellt wurden, ursprünglich für ein Vitamin gehalten wurden. Bei den fettlöslichen Vitaminen A und D liegt der erste derartige Fall vor. Gemeinsames Vorkommen im Lebertran, Eigelb in der Milch, in der Butter, gleiche Löslichkeitsverhältnisse beider Vitamine, beide Bestandteile des unverseifbaren Teils der erwähnten Fette begünstigen lange Zeit diese Verwechslung. Schließlich führte jedoch die Tatsache, daß das Vitamin A gegen Hitze empfindlicher ist als D, sowie die Überführung des Ergosterins der Hefe durch Ultraviolettbestrahlung in das Vitamin D zu der klaren Erkenntnis, daß beide Vitamine verschieden sind.

1. Vitamin A.

Fettlösliches Wachstums-Vitamin, Anti-xerophthalmisches Vitamin.

Das fettlösliche Vitamin A braucht vor allem der wachsende Organismus. So wurde die Xerophthalmie (Keratomalacie), eine im Kindesalter auftretende Augenerkrankung, die 1904 epidemisch in Japan, während des Krieges auch in Dänemark unter den Kindern auftrat, durch die von Stepp 1909, Mc.Collum 1913, Mellanby u. a. an jungen Ratten und Mäusen durchgeführten Tierversuche als eine typische Avitaminose erkannt. Nicht bei allen A-Vitaminfrei ernährten Tieren tritt jedoch die Augenerkrankung ein; dagegen zeigt der immer im Tierversuch feststellbare Wachstumsstillstand, daß das Vitamin A unentbehrlich für normales Wachstum ist, weshalb das Vitamin A auch als fettlösliches Wachstums-vitamin bezeichnet wird. Bemerkenswert ist, daß Mangel an Vitamin A beim Kind und beim Erwachsenen eine besondere Empfänglichkeit gegen eine Reihe von Infektionskrankheiten hervorruft, was auch durch zahlreiche Tierversuche bestätigt wurde. Auch die sog. Nachtblindheit (Hemeralopie) scheint mit einem Unterangebot an Vitamin A zusammenzuhängen¹.

Hauptvorkommen des Vitamins A sind vor allem die Leberöle von Fischen (Lebertrane), wiewohl der biologische Wert derselben großen

¹ C. 1933 II, 3152.

Schwankungen unterworfen sein kann¹. Reich an Vitamin A sind ferner das Eigelb, die Milch und Butter, während tierische Speicherfette (Schweinespeck) und pflanzliche Fette und Öle Vitamin A-frei sind.

Neben dem Tierversuch waren für die weitere Erforschung und spätere Isolierung vor allem wichtig die intensive Blaufärbung, die das Vitamin mit AsCl_3 * oder besser mit SbCl_3 (*Carr und Price* 1926, s. Einleitung) in Chloroformlösung gibt. Diese bequeme und empfindliche Färbereaktion ist allerdings nur bei Abwesenheit von Carotinoidfarbstoffen spezifisch für Vitamin A, da auch diese Farbstoffe eine nur spektroskopisch unterscheidbare Blaufärbung mit SbCl_3 geben.

Hauptabsorption der mit SbCl_3 entstehenden Blaufärbung

bei Carotin

$590 \text{ m}\mu$

bei Vitamin A

$572 \text{ m}\mu$ (und $606 \text{ m}\mu$)

Es gründet sich darauf ein Verfahren zur colorimetrischen Gehaltsbestimmung von Vitamin A-Lösungen².

Vitamin A selbst zeigt ein Absorptionsband im Ultraviolett bei $328 \text{ m}\mu$, was ebenfalls von einigen Forschern als Wegweiser bei der Reinigung benutzt worden ist.

Beziehung der Carotinoide zu Vitamin A.

Von großer theoretischer und praktischer Bedeutung ist die Entdeckung³ gewesen, daß Carotinoidfarbstoffe, speziell das α - β - und γ -Carotin, die hauptsächlich in der gelben Rübe und anderen vorkommenden intensiv gefärbten Kohlenwasserstoffe $\text{C}_{40}\text{H}_{56}$, ferner das Kryptoxanthin $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}$ (Naturfarbstoffe) in der Leber in Vitamin A verwandelt werden.



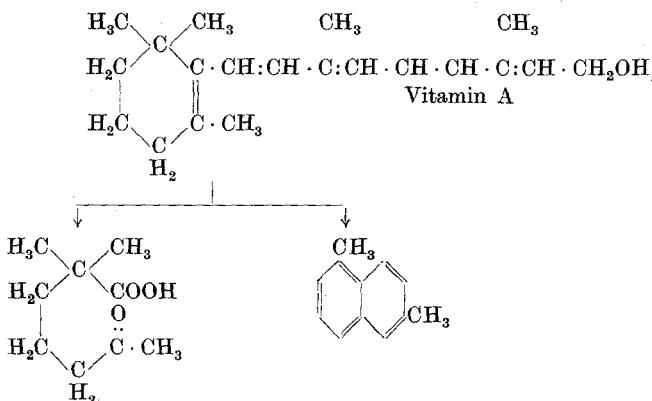
Der tierische Organismus besitzt die Fähigkeit, Vitamin A in verschiedenen Geweben und Organen, besonders in der Leber zu speichern. In welcher Weise das Vitamin A in den Stoffwechsel eingreift, ist heute noch nicht mit Sicherheit erkannt.

Isolierung. Die Versuche zur Isolierung des Vitamins A gehen alle von der zuerst von *Mc.Collum* und *Davis*⁴ festgestellten Tatsache aus, daß das Vitamin A (und D) im unverseifbaren Teil des Lebertrans bleibt. Demgemäß wird das Leberfett (besonders reich ist Heilbuttlebertran) (*Karrer*) mit kochender alkoholischer Lauge bei möglichstem Ausschluß von Luftsauerstoff verseift und der unverseifbare Teil mit reinem Äther ausgeschüttelt. Nach Abtrennung der Sterine (durch Fällung mit Digitonin oder Abkühlung der methylalkoholischen Lösung auf -60°) bleibt ein gelbliches Öl zurück, das im allgemeinen Vitamin A und wenig Vitamin D angereichert enthält. Eine weitere Reinigung gelingt ent-

¹ Vgl. *H. Seel*: Z. Vitaminforsch. 1933 II, 82. — * *Rosenheim*, O. u. *J. C. Drummond*: C. 1920 III, 206. — ² Z. physiol. Chem. 221, 117. — ³ *Moore, Thomas*: C. 1930 I, 2580. — *Euler*, v.: C. 1930 I, 3324. — ⁴ C. 1915 I, 905.

weder durch eine Absorption an Aluminiumhydroxyd¹ oder durch Hochvakuumdestillation (10^{-5} mm)². Die so erhaltenen ölichen Präparate sind im Wachstumsversuch in einer Menge von 0,5 bzw. 0,1 γ wirksam.

Vitamin A $C_{20}H_{29}OH$, schwach gelbliches Öl; Acetyl-, Benzoyl- und p-Nitrobenzoylderivat sind nicht krystallisierbar. Absorptionsspektrum: Hauptbande im Ultraviolet bei $328 m\mu$ gibt mit $AsCl_3$ und besonders mit $SbCl_3$ in Chloroformlösung eine intensive Blaufärbung. Bei Ausschluß von Sauerstoff ist es längere Zeit kochbeständig; durch Einwirkung von Brom und Oxydationsmitteln wird es sofort zerstört. Ozon führt zur Isolierung von Geronsäure, die das Vorliegen eines β-Ionenringes beweist³ (s. auch β-Carotin). Durch Dehydrierung mit Selen entsteht unter Bildung eines II. Ringes und unter Absplitterung zweier Methylgruppen und eines Teils der C. Seitenkette I, 6-Dimethylnaphthalin⁴.



Der formelmäßige Zusammenhang des Vitamins A mit den Carotinfarbstoffen ist erbracht. Bemerkenswert und in schöner Übereinstimmung mit den Formeln steht die Tatsache, daß das β-Carotin, das durch Spaltung in der Mitte des Moleküls 2 Mol. Vitamin A ergibt, sich im Tierversuch am wirksamsten erweist. Diese Überführbarkeit in Vitamin A scheint an das Vorhandensein von mindestens einem Ionenring gebunden zu sein. Deshalb ist auch das mit den Carotinen oft vorkommende rein aliphatische Polyen Lycopin $C_{40}H_{56}$ kein Provitamin A; während umgekehrt Kryptoxanthin $C_{40}H_{56}O$ als einziges Xanthophyll Vitamin A-Wirkung zeigt. Diese Tatsache ist für die Völker, deren Hauptnahrung der Mais ist, auch von großer praktischer Bedeutung.

Unter der Bezeichnung „Vogan“ bringt die Firma E. Merck, Darmstadt, gemeinsam mit I. G. Farbenindustrie ein Vitamin A-Konzentrat in den Handel.

¹ Karrer: Helv. 14, 1033, 1036, 1431. — ² Heilbron u. Mitarb.: C. 1933 I, 249. —

³ Karrer: Helv. 14, 1036 (1931). — ⁴ Heilbron, Morton u. Webster: C. 1933 I, 250.

2. Vitamin D.

Antirachitisches Vitamin.

Das ebenfalls fettlösliche Vitamin D beeinflußt vor allem den Mineralstoffwechsel, speziell den Kalk-Phosphorsäure-Stoffwechsel. Es ist von den bis heute bekannten Vitaminen das praktisch bedeutendste, da sein Mangel in den ersten Lebensjahren zu starken, bleibenden Deformationen der Knochen führen kann (Rachitis). Auch Anlage und Beschaffenheit der Zähne scheinen durch das Vitamin D beeinflußt zu werden. Daraus geht klar die besondere Bedeutung dieses Vitamins für das Kleinkind und das wachsende Tier hervor. Relativ selten zeigen sich beim Erwachsenen Mängelscheinungen, dieses Vitamins; nur die bisweilen auftretende Osteomalacie, die Rachitis des Erwachsenen, zeigt, daß auch in diesem Lebensalter das Vitamin D nicht vollkommen entbehrlich werden kann.

Die hier in Betracht kommende Avitaminose ist die Rachitis, obwohl diese Erkrankung zweifellos komplexere Ursachen hat, als die mit anderen Vitaminen zusammenhängenden Avitaminosen. Das Hauptsymptom dieser Erkrankung ist das Ausbleiben der Verfestigung des wachsenden Knorpelgewebes durch Einbau von Calciumphosphat; dadurch bleiben die Knochen weich und erleiden starke Verkrümmungen. Klinisch wird Rachitis durch einen Mindergehalt des Blutes an Phosphaten und das sehr typische Röntgenbild der Wachstumszone der Knochen angezeigt. Als gute Versuchstiere werden Ratten verwendet, die durch eine geeignete Vitamin D-arme Kost leicht die Symptome der Rachitis entwickeln.

Seit langem ist bekannt, daß man Rachitis durch zwei Faktoren bessern bzw. heilen kann: Einmal durch Bestrahlung mit ultraviolettem Licht oder durch Zugabe von Lebertran zur Kost. Gerade die letztere Tatsache weist darauf hin, daß der heilende Faktor in einem Fett enthalten sein kann. Andererseits schien dagegen der günstige Einfluß des ultravioletten Lichtes gegen das Vorliegen einer Avitaminose zu sprechen. Heute, wo wir auf Grund vieljähriger Forschung die Zusammenhänge überblicken, wissen wir, daß es ein an sich unwirksames „Provitamin“ ist, das durch Bestrahlung (der Haut oder der Nahrung) mit ultraviolettem Licht in das Vitamin D übergeführt wird, das im Lebertran schon fertig vorkommt. In geringerer Menge findet sich das Vitamin auch in der Milch, Butter und im Eigelb.

Die ersten Versuche, das Vitamin zu isolieren, wurden mit Lebertran ausgeführt; sie brachten auch die Klärung der für die Isolierung wichtigsten Eigenschaften: Sein Verbleiben in der unverseifbaren Fraktion des Lebertrans, seine den Sterinen vollkommen analogen Löslichkeitsverhältnisse; zum Unterschied von dieser Körperklasse jedoch seine Nichtfällbarkeit durch Digitonen¹. Über die Abtrennung des Vitamins A

¹ Nelson u. Steenbock: C. 1925 II, 2065.

mit Maleinsäureanhydrid aus Mischungen von Vitamin A und D s. Z. physiol. Chem. 224, 90.

Von größter Bedeutung für die weitere Bearbeitung des Problems war die schon oben erwähnte Entdeckung, daß das Vitamin in gewissen Fetten bzw. deren Sterinfaktion in Form einer unwirksamen Vorstufe enthalten ist, eines „Provitamins“, das durch ultraviolettes Licht in das Vitamin D verwandelt wird¹.

Dadurch war die Isolierung auf die Ermittlung dieser Muttersubstanz zurückgeführt. Da Cholesterin auch nach oftmaliger Reinigung durch Umkristallisieren bei der Ultraviolettbestrahlung Vitamin D-Wirkung zeigte, glaubte man zunächst in diesem Sterin das Provitamin gefunden zu haben². Diese Auffassung hat sich bald als irrtümlich erwiesen³. Als man nämlich Cholesterin verwendete, das über sein Dibromderivat gereinigt war, blieben alle Versuche, daraus durch Bestrahlung wirksame Präparate zu erhalten, vergeblich³. Auch durch andere Verfahren (Oxydation mit Permanganat in Aceton, Adsorption an Tierkohle) konnte das nunmehr als Begleitkörper des Cholesterins festgestellte Provitamin restlos entfernt werden.

Bei der Hartnäckigkeit, mit der das Provitamin dem Cholesterin anhaftet, war es mit höchster Wahrscheinlichkeit unter den gegen Oxydationsmittel empfindlicheren Sterinen zu suchen. In diesem Stadium brachte die Messung des Ultraviolettsorptionsspektrums des provitaminhaltigen Cholesterins den entscheidenden Fortschritt. Sie zeigte, daß gewöhnliches Cholesterin 1/60% einer im längeren Ultraviolet selektiv absorbierenden Verunreinigung enthielt, deren Absorptionsmaxima bei 293,5, 281,5, 265 m μ liegen und deren Ultraviolettsorption durch Bestrahlung nach kürzeren Wellenlängen verschoben wird⁴. Damit war zugleich ein Hinweis gegeben, daß das Provitamin ein stärker ungesättigtes Sterin sein mußte. Als solches kam vor allem das zuerst aus dem Mutterkornfett⁵, später auch aus anderen Pilzfetten, vor allem aus Hefefett⁶ dargestellte Ergosterin C₂₈H₄₄O, F. 165° in Betracht⁷.

In der Tat stimmt Ergosterin in seiner Ultraviolettsorption⁸, seiner Empfindlichkeit gegen Oxydationsmittel, der leichten Absorption durch aktive Kohle mit dem Provitamin überein und es wird durch Bestrahlung unter Verschiebung der Absorption nach dem kurzwelligeren Teil des Ultravioletts in das in minimalen Dosen noch wirksame, durch Digitonin nicht mehr fällbare Vitamin D übergeführt.

¹ C. 1925 I, 539, 2575. — ² C. 1926 II, 1926. — ³ Hess, A. F. u. A. Windaus: C. 1927 II, 1721. — ⁴ C. 1926 I, 1837, 3076, 3484. — ⁵ Tanret: C. 1908 II, 716. — ⁶ McLean, Ida S.: C. 1920 III, 554. — ⁷ Siehe Sterine und Windaus, A. u. A. F. Hess: Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, 1926, 175. — C. 1927 I, 2922. — Chem.-Ztg., 51, 103 (1927). — ⁸ Pohl, R.: N. 15, 433 (1927). — Windaus u. Hess: C. 1927 I, 2922. — Rosenheim u. Webster: C. 1927 II, 1165, 2553. — Heilborn: C. 1927 II, 1437.

Die Isolierung des reinen krystallisierten Vitamins D aus dem ölichen Bestrahlungsprodukt des Ergosterins gelang erst nach mehrjährigem Bemühen, während die Reindarstellung desselben aus dem Lebertran bis jetzt erfolglos war. Wie *Windaus* und seine Mitarbeiter gezeigt haben¹ entstehen bei der photochemischen Umwandlung des Ergosterins eine Reihe von Zwischen- und Nebenprodukten, deren einzelne Vertreter in folgender Reihenfolge entstehen und sämtlich Isomere des Ausgangssterins darstellen:

Ergosterin → Lumisterin → Tachysterin — Vitamin D — Suprasterine (unwirksame Überbestrahlungsprodukte).

Vitamin D (— Vitamin D₂; *Windaus*, — Calciferol; engl. Forscher) C₂₈H₄₄O, F. 115—116°; [α]D + 103°, α 546 + 124° (Alkohol); Hauptabsorption bei 265 mμ; enthält 3 Ringe und 4 Doppelbindungen, davon eine an derselben Stelle wie Ergosterin in der Seitenkette, zwei weitere in konjugierter Stellung; Vitamin D wird durch Digitonin nicht gefällt und ist im Hochvakuum untersetzt destillierbar. 3,5-Dinitrobenzoesäureester, F. 148—149° [α]D + 55°. Dihydrovitamin DC₂₈H₄₆O, F. 65°; [α]d + 8,0°, durch Reduktion des Vitamins mit Na und Alkohol ist unwirksam². Beim Erhitzen des Vitamins auf 190° erfolgt Isomerisierung unter Bildung einer unwirksamen, ungiftigen Molekülverbindung (F. 122 bis 124°) von Isopyrovitamin (F. 112—115°, mit Digitonin fällbar) und Pyrocalciferol, F. 95—95°*. Vitamin D-Präparate werden unter verschiedenen Namen therapeutisch oder prophylaktisch verwendet: Vigantol (I. G. Farbenindustrie, E. Merck); Viosterol, Radiostol, Präformin.

3. Vitamin E.

Antisterilitätsvitamin.

Auf dieses fettlösliche Vitamin ist man zuerst durch Ratten- und Mäuseversuche aufmerksam geworden³. Es zeigte sich, daß Tiere, die ausschließlich mit Milch oder mit einer alle Nährstoffklassen und bekannten Vitamine enthaltenden Kost ernährt wurden, nach einiger Zeit sich mehr fortpflanzten. Die Schädigung betrifft sowohl weibliche Tiere, deren Fetus bei Vitamin E-Mangel nach anfänglich normaler Entwicklung abstirbt und vom mütterlichen Organismus resorbiert wird, als auch männliche Tiere, die die Zeugungsfähigkeit verlieren.

Grüne Blätter (Salate), die Keimlinge der Pflanzensamen und die aus den Samen durch Pressen gewonnene Öle: Weizen-, Mais-, Hafer-, Baumwollsamenöl sind die hauptsächlichsten Quellen für das Vitamin E; geringe Mengen enthält auch die Milch, die Butter, während Lebertran und Hefefett in der Regel vollkommen frei davon sind.

¹ *Windaus* u. Mitarb.: A. 499, 188 (1932). — Z. physiol. Chem. 215, 183. —

² A. 492, 226; dort auch zugleich Literatur. — * Z. physiol. Chem. 214, 211. —

³ C. 1921 I, 101; 1923 I, 1634.

In seinen Löslichkeitsverhältnissen gleicht es den Sterinen, bleibt wie diese im unverseifbaren Teil obiger Öle, wird jedoch durch Digitonin nicht gefällt. Gegen Temperatureinflüsse ist es sehr widerstandsfähig und läßt sich bei 230° im Vakuum ohne Einbuße an Wirksamkeit destillieren¹. Besonders empfindlich dagegen ist es gegen peroxydischen Sauerstoff; es wird daher auch vernichtet beim Ranzigwerden obiger Öle. Eine Reindarstellung ist bis jetzt nicht gelungen².

b) Wasserlösliche Vitamine: B- und C-Gruppe.

Vitamine der B-Gruppe.

Die Erforschung dieser Gruppe nahm ihren Ausgangspunkt von der Beriberi-Erkrankung, deren Zusammenhang mit der einseitigen Ernährung durch polierten Reis und deren Heilung durch Reiskleie oder Extrakte daraus hauptsächlich von japanischen und holländischen Ärzten gezeigt wurde. Besonders wichtig für die wissenschaftliche Weiterentwicklung dieser Vitamingruppe waren jedoch die von *Ch. Eijkman* (1897) an Tauben, Hühner und anderen Vögeln ausgeführten Tierversuche, die mit absoluter Eindeutigkeit die Vitaminnatur der heilenden Verbindung bewiesen. Die weitere Entwicklung gerade dieser Vitamingruppe ist jedoch überaus verwickelt. Während es anfänglich schien, als ob zur Vermeidung der Beriberi ähnlichen Erkrankung und zur Aufrechterhaltung normalen Wachstums bei Tieren ein wasserlösliches Vitamin (Anti-Beriberi oder Wachstumvitamin) ausreichend sei, haben die besonders in den Jahren 1925—30 ausgeführten zahlreichen Tierversuche gezeigt, daß die früher verwendeten Vitaminfraktionen mindestens 2 Vitamine enthalten, die nunmehr allgemein als Vitamin B₁ (Antineuritisches, Anti-Beriberi-Vitamin) und Vitamin B₂ (Anti-Pellagra-Vitamin, Wachstumsvitamin) unterschieden werden.

Im weiteren Verlauf der Forschung sind durch sehr sorgfältige Tierversuche sogar einige weitere Vitamine, B₃, B₄ wahrscheinlich gemacht worden. Bemerkenswert ist, daß sämtliche hier erwähnten Vitamine in der Hefe vorkommen und sich durch verschiedene Stabilität (Hitze, Alkali) unterscheiden.

1. Vitamin B₁.

Antineuritisches, Anti-Beriberi-Vitamin (Oryzanin).

Wie schon erwähnt, wurde man durch die Beriberi-Erkrankung, deren Hauptverbreitungsgebiet die hauptsächlich reiskonsumierende Bevölkerung Japans, Chinas, Indiens und der malaiischen Inseln ist, auf das Vitamin B₁ aufmerksam. Es ist das Verdienst des japanischen Arztes *Takaki* (1885), gezeigt zu haben, daß durch eine Änderung der Diät die bis dorthin sehr häufige Erkrankung zur Heilung gebracht werden

¹ C. 1927 I, 625. — ² Versuche zur Konzentrierung: C. 1932 II, 1469.

konnte. Dadurch war Beriberi eindeutig als eine Avitaminose gekennzeichnet, für deren Entstehung Mangel an Vitamin B₁ eine der Hauptursachen darstellt. Eine intensive wissenschaftliche Erforschung begann mit der Entdeckung *Eijkmans* (1897), der bei Hühnern und Tauben durch Ernährung mit geschältem und poliertem Reis eine in ihren Symptomen der menschlichen Beriberi-Erkrankung überaus ähnliche Krankheit (*polyneuritis gallinarum*) entwickeln konnte. Mit Hilfe dieser Tierversuche konnten Vorkommen und Haupteigenschaften des Vitamins auf Grund unzähliger Einzelarbeiten geklärt werden.

Hauptvorkommen. Reiskleie, Hefe, Getreidekorn, speziell in dem Getreidekeimling, Leber; in winzigen Mengen in vielen Nahrungsmitteln (Gemüsen).

Löslichkeit, Hitzestabilität. Da wässrige Extrakte und solche mit 70% Alkohol von Hefe und Reiskleie Heilwirkung zeigen, ist das Vitamin löslich in Wasser und verdünntem Alkohol, Eisessig; dagegen ist es unlöslich in Äther, Benzol, Petroläther. Auf Grund der Tierversuche wurde in bezug auf seine Stabilität gegen Erhitzen ermittelt, daß das Vitamin B₁ mehrstündig Kochen in wässriger Lösung ohne nennenswerte Schädigung verträgt; dagegen wird es bei höherer Kochtemperatur (120—130° im Autoklaven) schon nach kurzem Kochen geschädigt, bei längerem Erhitzen vollkommen zerstört. Hier liegt der Hauptunterschied gegenüber dem Vitamin B₂, das hitzestabilier ist. Im Autoklaven erhitzte Hefe zeigt demgemäß keine beriberihilende Wirkung mehr. Während das Vitamin selbst gegen hohe Wasserstoffionenkonzentration beständig ist, wird es von Alkali in kürzester Zeit zerstört. Für Reindarstellung von praktischer Bedeutung ist die Tatsache, daß es durch verschiedene Adsorptionsmittel: Silikagel, Tonerde, Fullererde, Tierkohle aus wässriger Lösung absorbiert wird.

Isolierung des krystallisierten Vitamins B₁. Die Reingewinnung hat schon *C. Funk* (1911) versucht. Es bedurfte jedoch fast 20jähriger Arbeit, bis die Bemühungen von Erfolg waren. *B. C. P. Jansen* und *W. F. Donath* (1926)¹ waren die ersten, die das Vitamin aus Reiskleie in Form des Chlorhydrates in krystallisiertem Zustand isolierten. Einige Jahre später (1931) haben *A. Windaus* und Mitarbeiter das Vitamin-Chlorhydrat auch aus Hefe dargestellt und den bis dahin übersehenen Schwefelgehalt desselben festgestellt². Nach *Tscheche*³ sind die aus verschiedenen Ausgangsmaterial gewonnenen Vitamine mit größter Wahrscheinlichkeit identisch⁴. Inzwischen ist das Vitamin noch öfter rein erhalten worden⁵. Aus 100 kg Reiskleie erhielten *Jansen* und *Donath* 0,1 g Vitaminchlorhydrat; *S. Ohdake* aus 11,500 kg Reiskleie 1,6 g Chlorhydrat.

¹ C. 1927 I, 1850. — ² Z. physiol. Chem. 204, 123. — ³ Chem.-Ztg 56, 166. — ⁴ C. 1933 I, 1311. — ⁵ C. 1931 I, 1126; 1932 II, 2070, 2202.

Vitamin B₁. Aus den Salzen leitet sich für das Vitamin B₁ die Formel C₁₂H₁₈O₂N₄S ab; auch die um 1 Mol. (Krystall-?) wasserärmere Formel C₁₂H₁₆ON₄S ist in Betracht zu ziehen¹. Chlorhydrat F. 250° (Zers. optisch inaktiv); Pikrolonat: Vitamin 2-Pikrolonsäure, F. 229° (Zers.); von Pikrinsäure wird es nicht gefällt. Chloraurat Zers. 198°; Absorptionsbanden in Alkohol zwischen 360 und 310 bzw. 280 und 250 m; besitzt keine freie NH₂-COOH-, OH-, CO- oder NH-Gruppe; ist frei von Methoxyl und Methylimid. Bei der katalytischen Hydrierung wird mindestens 1 H₂ aufgenommen. Durch saure KMnO₄-Lösung, Bromlauge, H₂O₂ wird das Vitamin oxydiert. Acetylchlorid, Acetanhydrid, Thionylchlorid führen zu öligen Produkten².

2. Vitamin B₂.

Anti-Pellagra-Vitamin, antidermatitisches Vitamin
(bisweilen auch Vitamin G.).

Goldberger und Lillie (1926) konnten bei Ratten, die mit einer Vitamin B₂-armen Kost ernährt wurden, die dadurch entstandenen pellagraähnlichen Symptome nicht zur Heilung bringen, trotzdem ihnen Vitamin B₁ in Form eines alkoholischen Maisextraktes in reichlicher Menge dargeboten wurde. Durch Zugabe von im Autoklaven (120°) erhitzter Hefe (deren Vitamin B₁ dadurch zerstört wird) können die Krankheitssymptome geheilt werden. Dadurch ist gezeigt, daß B₂-Vitaminhitzestabiler (in saurer Lösung mehr als in alkalischer) als B₁ ist. Physiologisch scheint es als „Methylenblau der Zelle“ als Wasserstofffakzeptor an den Oxydo-Reduktionsprozessen des Organismus beteiligt zu sein³.

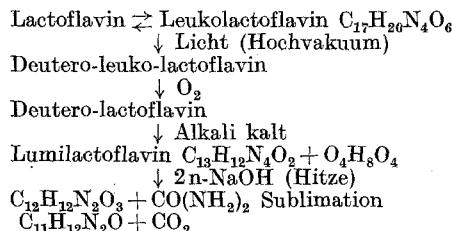
In dieser Beziehung ist bemerkenswert, daß ein von O. Warburg⁴ aus Hefe isoliertes gelbes Oxydationsferment sich als Verbindung von Vitamin B₂ (Lactoflavin) und einem Eiweißkörper, als ein Chromoproteid, erwiesen hat⁵. Es ist durch Elektrophorese rein dargestellt worden⁶.

Hauptvorkommen von Vitamin B₂. Hefe, Milch (Molke). Eiklar, Leber, Niere.

Das Vitamin B₂ liegt in den wasserlöslichen, stark gelbgrün fluoreszierenden Farbstoffen, den sog. Lyochromen vor, die in der Molke, im Eiklar, in der Hefe, Leber, Herz, Niere enthalten sind⁷. Zwei derselben, das Ovoflavin und Lactoflavin, in ihren Eigenschaften überaus ähnlich, sind krystallisiert erhalten worden⁸. Lactoflavin ist im Rattenversuch besonders eingehend geprüft und (bei Gegenwart von Vitamin B₄) biologisch wirksam gefunden worden⁸.

¹ Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, 1932, 342. — C. 1933 I, 1311. — ² van Veen, A. G.: C. 1932 I, 3312, 3313. — ³ B. 66, 1298. — ⁴ Biochem. Z. 254, 438 (1932). — ⁵ B. 67, 1220. — ⁶ N. 22, 289. — ⁷ Kuhn, R. u. Mitarb.: B. 66, 317, 576, 1034, 1577, 1950. — Ellinger, Ph. u. W. Koschara: B. 66, 315, 808, 1411. — ⁸ N. 21, 560. — B. 66, 1950. — Klin. Wschr. 1912 II, 1241.

Lactoflavin $C_{17}H_{20}N_4O_6$, F. 278° und Zers. (korr.) α D — 120° (NaOH) (Tetracetyl derivat F. 242° und Zers.), braun-orange gefärbte Nadeln. Hauptabsorptionsbanden in wässriger Lösung: 445, 365, 265, 220 m*; in Wasser leicht löslich; beständig gegen Säuren, von Alkalien verändert. Bildet mit Silber- und Thallosalzen schwerlösliche Salze, die mit Vorteil zur Reindarstellung verwendet werden können. Bemerkenswert ist, daß der Farbstoff zwei Leukoverbindungen bildet. Durch milde Reduktion (Na-hydrosulfit, Pt + H₂ Zinkstaub in saurer Lösung) entsteht das farblose Leukolactoflavin, das durch Luftsauerstoff in Lactoflavin zurückverwandelt wird. Einwirkung von Licht bei Ausschluß von Luft dagegen führt zu dem farblosen Deutero-leuko-lactoflavin, das durch Luftsauerstoff in das von dem Ausgangsfarbstoff verschiedene Deutero-lactoflavin übergeführt wird. Das Hauptunterscheidungsmerkmal dieses neuen Flavins ist die Unbeständigkeit gegen Alkali in der Kälte, wodurch es unter Abspaltung einer stark hydroxylhaltigen Seitenkette C₄H₈O₄ in das CHCl₃ lösliche Lumilactoflavin $C_{13}H_{12}N_4O_2$, F. 328° übergeführt wird, das auch direkt aus Lactoflavin durch Einwirkung von Licht in alkalischer Lösung bei Gegenwart von Luft erhalten wird. Einwirkung von 2 n-NaOH in der Hitze spaltet aus dem Lumilactoflavin 1 Mol. Harnstoff hydrolytisch ab unter Hinterlassung einer Carbonsäure C₁₂H₁₂N₂O₃, F. 215° sublimierbares, die ein schwach gelbes Decarboxylierungsprodukt C₁₁H₁₂N₂O, F. 174° liefert¹. Die Zusammenhänge sind in folgenden schematisch wiedergegeben:



Vorläufige Ansichten über die Konstitution des Lumilactoflavin s. B. 67, 1104, 1125, 1298 (1934).

3. Vitamin B₃ und B₄.

Die für die Identifizierung und schließliche Reindarstellung der beiden bisher erwähnten B-Vitamine von vielen beteiligten Forschern ausgeführten Tierversuche ergeben, daß die Vitamine B₁ und B₂ zwar eine rasche Abheilung der Beriberi- bzw. Pellagrasymprome herbeiführen,

* Isolierung aus Labmolke B. 66, 1037, 1954. — ¹ Biochem. Z. 263, 228; 266, 377. — B. 66, 1577, 1953; 67, 892, 898.

jedoch genügen selbst große Gaben von Vitamin B₁ und autoklavierter Hefe (B₂) nicht, um den Wachstumsstillstand aufzuhalten und Gewichtsvermehrung zu erzielen. Tauben bedürfen hierzu mindestens noch des thermolabilen, durch Fullererde nicht absorbierbaren (Unterschied von B₁) Vitamins B₃, Ratten des ebenfalls hitzeempfindlichen, durch Mercurisulfat fällbaren (Unterschied von B₁) Vitamins B₄. Diese beiden Vitamine finden sich in frischer Hefe und im Weizenkorn. Über die Chemie dieser Ergänzungsstoffe ist noch wenig bekannt.

4. Vitamin C.

Antiskorbutisches Vitamin. Askorbinsäure.

Das wasserlösliche antiskorbutische Vitamin C ist in pflanzlichen Produkten weit verbreitet, jedoch enthalten es nur wenige pflanzliche Nahrungsmittel in größerer Konzentration. Mangel des C-Vitamins in der Nahrung bewirkt das Auftreten des Skorbut, eine in früherer Zeit besonders unter den Seefahrern sehr häufige Erkrankung, deren Zusammenhang mit der Ernährung aber schon sehr bald erkannt, ihre Heilung dadurch ermöglicht wurde. Der Skorbut, diese Avitaminose reinster Prägung, tritt seiner Bedeutung nach für den Erwachsenen in unserer Zeit dank der klaren Erkenntnis der Zusammenhänge zurück, dagegen spielt das Auftreten des Säuglingsskorbut (Möller-Barlöwsche Krankheit) auch heute eine große Rolle. Die typischen Symptome des Skorbut sind eine charakteristische Zahnerkrankung (Lockerung der Zähne, schmerhaftes, blutgefülltes Zahnfleisch), häufige Blutergüsse in die Gewebe (Unterschenkel), spontane Knochenfrakturen (besonders der Rippen); damit geht Hand in Hand eine Veränderung lebenswichtiger Drüsen und als Folgeerscheinung eine große Neigung zu Infektionserkrankungen. Die Ursache ist im Falle des Erwachsenenskorbut das Fehlen jeder frischen Nahrungsmittel, beim Säugling die ausschließliche Verwendung pasteurisierter Milch; in beiden Fällen wird dem Organismus nicht genügend Vitamin C zugeführt.

Das Vorkommen des Vitamins C im Citronensaft und Orangensaft war vor allem durch die schon 1804 allgemein bekannte Heilwirkung dieser Säfte festgestellt.

Die wissenschaftliche Erforschung begann auch hier erst mit der Verwendung eines geeigneten Versuchstieres. Meerschweinchen (auch Affen) sind gegen Mangel an Vitamin C besonders empfindlich, und man kann bei diesen Tieren durch eine Vitamin C-arme Kost leicht die den menschlichen Skorbutsymptomen äußerst ähnlichen Erscheinungsformen des Meerschweinchenskorbut hervorrufen. Andere Tiere wieder, z. B. Ratten und Mäuse, sprechen auf Vitamin C-Mangel wenig an, und es besteht daher die Vermutung, daß ihr Organismus imstande ist, einen

Bestandteil der Nahrung in kleinem Ausmaße in Vitamin C zu verwandeln.

Vorkommen und Stabilität des Vitamins C gegen verschiedene Einflüsse wurden mit Hilfe des Tierversuches weitgehend geklärt. Es findet sich fast ausschließlich in frischem pflanzlichen Material vor; so in grünem Gemüse, besonders reichlich in den Kohlarten, Spinat, ferner in Früchten bzw. deren Säften wie Citronen, Orangen, Tomaten, in der Kartoffel, in der rohen Milch. Durch die Forschungen des Jahres 1932 und 1933 sind noch als besonders reich erkannt worden; die Paprikafrüchte von Capsicum annum¹ und die Nebennierenrinde² und die Thymusdrüse³. Bemerkenswert ist, daß Hühnereier (sowohl Eigelb wie Eiklar) und die sonst so vitaminreiche Hefe kein Vitamin C enthalten, während sich im Muskelfleisch von Tieren vor allem im rohen Zustand ein geringer Gehalt nachweisen läßt.

Bei allen natürlichen Quellen für Vitamin C wird der Vitamingehalt schon durch kurzes Kochen besonders bei Gegenwart von Luft herabgesetzt, bei längerem Kochen oder beim Erhitzen im Autoklav vollkommen zerstört. Dabei ist das Vitamin in saurer Lösung stabiler als im alkalischen Medium. Auch bei längerem Liegen bei gewöhnlicher Temperatur wird es langsam zerstört; daher sind konservierte, pasteurisierte, getrocknete Nahrungsmittel nach längerer Lagerung im allgemeinen Vitamin C-frei.

Typisch für das C-Vitamin ist die erst spät entdeckte starke Reduktionswirkung gegen Metallsalzlösungen⁴. Diese Reduktionswirkung läßt sich zu einer quantitativen, titrimetrischen Bestimmung des Vitamins C verwenden⁵. Die reduzierende Eigenschaft und zahlreiche Gewebsversuche⁶ sprechen auch dafür, daß das Vitamin C in die Oxydo-Reduktionsprozesse des Organismus eingreift.

Isolierung des C-Vitamins. In zahlreichen Arbeiten wurde versucht, das Vitamin unter ständiger Kontrolle durch den Meerschweinchenversuch aus dem Citronensaft oder Orangensaft zu isolieren. Sie führten jedoch nur zu einer weitgehenden Anreicherung, aber nicht zum krystallisierten Vitamin. Immerhin zeigte die mit zunehmender Konzentration stärker werdende Reduktionswirkung (s. oben) und die verstärkte Enolreaktion (mit FeCl₃), daß beide Eigenschaften dem Vitamin zukommen. Inzwischen war von Szent-Györgyi auf Grund einer Beobachtung von Euler ein besseres Ausgangsmaterial für die Darstellung gefunden worden

¹ C. 1933 I, 2577. — ² C. 1932 II, 392; 1933 I, 2836. — ³ C. 1933 I, 3329. —

⁴ Silber-, Kupfersalze. C. 1924 I, 2925; 1924 II, 1943; KMnO₄-Lösung, Jodlösung, besonders auch gegen organische Farbstoffe, wie Methylenblau, vor allem 2,6-Dichlorphenolindophenol. — C. 1932 I, 1924. — Biochem. Z. 250, 312 (1933). — N. 1932, 314. — ⁵ Biochem. Z. 254, 187. — ⁶ Z. physiol. Chem. 217 I. — N. 1933, 236.

in Form der Nebennierenrinde. Es gelang daraus 1928¹ einen Stoff zu isolieren der Formel C₆H₈O₆, der später² als das antiskorbutische Vitamin (Askorbinsäure) erkannt wurde. In jüngster Zeit konnte ein noch ergiebigeres Ausgangsmaterial in den Paprikafrüchten gefunden werden. Aus 10 l Preßsaft aus frischen, reifen Paprikafrüchten konnten 6,5 g Askorbinsäure erhalten werden³.

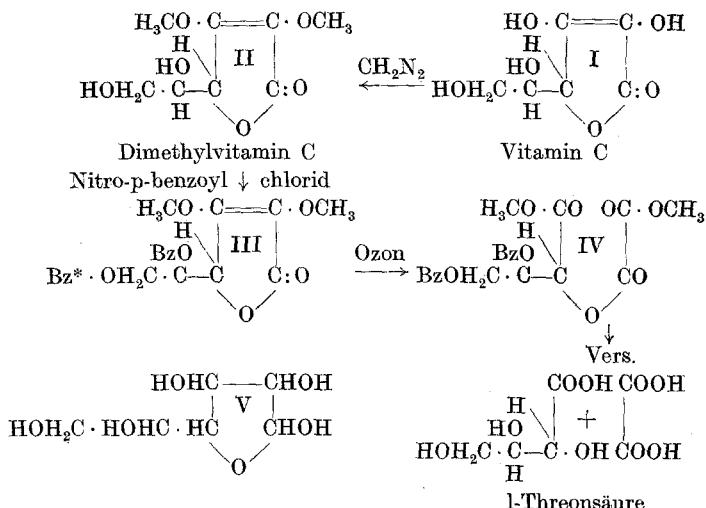
Vitamin C (auch Askorbinsäure genannt) C₆H₈O₆, F. 189° aus Dioxan F. 192°, D + 48° (CH₃OH), Absorption 245 m μ , Na-Salz [α] D + 102 bis 105°; Absorption 265 m μ . Diphenylosazon F. 210°. Askorbinsäure ist leichtlöslich in Wasser, Alkohol, unlöslich in Petroläther, zeigt die oben beschriebenen Reduktionswirkungen; starke Enolreaktion mit FeCl₃, mit Tetranitromethan starke Gelbfärbung; durch Luftsauerstoff und Oxydationsmittel wird es in alkalischer Lösung rasch zerstört; Derivate: Askorbinsäure-dimethyläther; F₆₃°, [α] D + 38°; aus Vitamin C mit Diazomethan⁴; Di-p-Nitrobenzoyl-askorbinsäuredimethyläther F. 172°, [α] D — 78,8°. Monoacetonverbindung F. 222°* ist im Tierversuch nur wenig wirksam; nach Abspaltung des Acetons wird die stark wirksame Askorbinsäure zurückerhalten; Triphenylmethylderivat F. 130° (Zers.⁵).

Konstitutionsmittlung. Die wesentlichen experimentellen Beiträge zur Konstitutionsermittlung haben *F. Micheel* und *K. Kraft*⁶ geleistet; die von ihnen zuerst aufgestellte Konstitutionsformel der Askorbinsäure ist kurz darauf von *Hirst*⁷ einer Revision unterzogen worden, der sich auch *Micheel* in einer neuen Arbeit⁸ anschloß.

Askorbinsäure (I), ein Enollacton, läßt sich mit Diazomethan in einen Dimethyläther (II) überführen, der keine Reduktionswirkung zeigt. Dadurch sind zwei Sauerstoffatome als zwei Enolgruppen zugehörig gekennzeichnet; zwei weitere Sauerstoffatome sind in Form alkoholischer Hydroxyle durch Veresterung mit p-Nitrobenzoësäure (III) festgelegt. Eine der beiden alkoholischen Gruppen ist eine primäre: Triphenylmethyläther; daß beide alkoholische Hydroxyle räumlich benachbart sind, wird durch die leichte Darstellung einer Acetonverbindung gezeigt. Die letzten beiden Sauerstoffatome sind Bestandteile einer Lactongruppe, die bei Einwirkung von verdünnter Natronlauge auf das Vitamin oder seinen Dimethyläther geöffnet wird. Den entscheidenden Einblick in die Verknüpfung der eben ermittelten Bestandteile brachte die Ozonspaltung der Di-p-nitrobenzoyl-dimethyl-askorbinsäure, die primär unter Erhaltung sämtlicher Kohlenstoffatome zu einem Abkömmling der Oxylil-l-threonsäure, F. 162° (IV), führt, die durch alkalische Verseifung in l-Threonsäure (Phenylhydrazid F. 158°) und Oxalsäure gespalten wird.

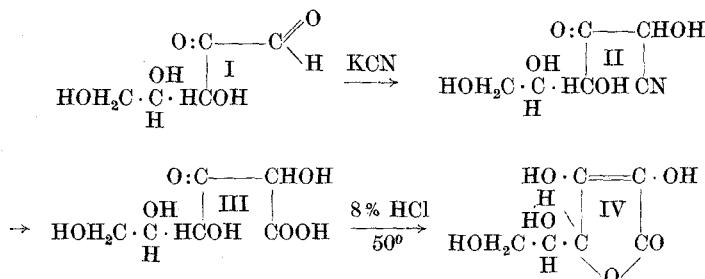
¹ Ref. C. 1930 I, 401. — ² C. 1932 II, 392; 1933 I, 2836. — ³ C. 1933 II, 1391. —

⁴ Z. physiol. Chem. 216, 236. — * C. 1933 I, 1112. — ⁵ C. 1933 I, 2970. — ⁶ Z. physiol. Chem. 215, 215; 216, 233. — ⁷ C. 1933 I, 2969, 3732. — ⁸ Z. physiol. Chem. 218, 280.



Die Formel der Askorbinsäure (1) zeigt klar die große Ähnlichkeit mit der 1, 4-oxydischen Form einer Hexose (V). Auf Grund dieses Zusammenhangs gelang es bald, die natürliche Askorbinsäure aus Zuckerkernaten geeigneter Raumordnung synthetisch zu gewinnen¹.

1-Xylosen (I) wird bei dieser Synthese mit KVN zu (II) umgesetzt, das überaus leicht über die Pseudoaskorbinsäure (III) mit 8% Salzsäure in natürliche 1-Askorbinsäure (IV) übergeführt wird:



In gleichgearteter Synthese wurden raumisomere Askorbinsäuren erhalten, ausgehend vom d-Xyloson, die d-Askorbinsäure, F. 187—189°, $[\alpha]_D -48^\circ$ (CH_3OH)².

Über die Synthese von Askorbinsäure-Isomeren aus 2-Ketogluconsäure s. B. 66, 1054. Auch D. K. Band, W. N. Haworth, R. W. Herbert, E. L. Hirst, E. Sunth und M. Stacey³ stellen von d-Glucoson, Arabinoson und Galaktoson ausgehend, eine Reihe von Askorbinsäure-Isomeren und -Homologen dar.

* $\text{B}_2 = \text{NO}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{CO}$. — ¹ C. 1933 II, 1208, 2418; 1934 I, 412. — ² C. 1933 II, 409. — ³ C. 1934 I, 2447. — Soc. 1934, 62—67.

Hormone¹.

Unter dem Begriff „Hormon“ versteht man einen chemischen Stoff, der durch eine spezifische physiologische Wirksamkeit ausgezeichnet ist, im normalen Organismus in bestimmten Organen produziert und von diesen direkt in die Blutbahn abgegeben wird. Da die Produktionsstätten der Hormone ihr Erzeugnis nicht nach „außen“, sondern nach „innen“ sezernieren, hat man sie auch als „Drüsen mit innerer Sekretion“ oder als „endokrine Drüsen“, die Hormone entsprechend als „inkrete“ bezeichnet (Roux). Der Name „Hormondrüsen“ und „Hormone“, d. h. anregende Stoffe (antreiben), ist von Starling in der Literatur eingeführt worden. Die Hormone lösen die ihnen eigene physiologische Funktion zumeist weit entfernt vom Entstehungsorte, am sog. „Erfolgsorgan“, aus; man hat die Hormone deshalb auch als „chemische Sendboten“ bezeichnet, mit deren Hilfe eine „chemische Korrelation“ der Organe hergestellt und deren sinnvolle Zusammenarbeit gewährleistet wird.

Die Hormonforschung hat von der Biologie und Medizin ihren Ausgang genommen: die Frage nach der Aufgabe einzelner Organe wurde durch das Studium von „Ausfallserscheinungen“, die am lebenden Tier nach Exstirpation des zu untersuchenden Organs einsetzen und durch Darreichung des betreffenden Drüsensextraktes zu beheben waren, dahingehend beantwortet, daß lebenswichtige chemische Stoffe in diesen

Produktionsstätte	Hormone	
Drüse	Rein dargestellt, chemisch charakterisiert	Nur in Rohextrakten untersucht
Nebennierenmark und Chromaffines Gewebe	Adrenalin $C_9H_{13}NO_3$	
Nebennierenrinde	Cortin $C_{20}H_{30}O_5$ (?)	
Schilddrüse	Thyroxin $C_{15}H_{11}O_4N_4$	
Pankreas	Insulin $[C_{45}H_{69}O_{14}N_{11}S]_x$	
Ovarium	a) Follikelhormon $C_{18}H_{22}O_2$ b) Corpus luteum Hormon $C_{21}H_{30}O_2$	
Testikel	Androsteron $C_{19}H_{30}O_2$	a) Wachstumshormon
Hypophysen-Vorderlappen		b) Gonadotropes Hormon
Hypophysen-Hinterlappen		c) Thyreotropes Hormon
Hypophysen-Mittellappen		d) Adrenotropes Hormon (?)
Epithelkörperchen		a) Oxytozin
Thymus		b) Vasopressin Intermedin
		Parathormon
		Thymushormon

¹ Trendelenburg. Die Hormone, Bd. 1 u. 2. Berlin: Julius Springer 1929 u. 1934.

Organen bereitet werden, die als Regulatoren der normalen Entwicklungs-, Wachstums- und Stoffwechselvorgänge dienen. — Mit dieser Erkenntnis hat die Biologie der Chemie die Aufgabe gestellt, diese Stoffe rein darzustellen und ihre Konstitution zu ermitteln.

- a) Kalikrein = Herz und Kreislaufhormon
 - b) Phytohormone = Auxin
- | | |
|-----------------|-----------------|
| Epiphyse | Epiphysenhormon |
| Darmschleimhaut | Secretin |

Hormone finden sich in der Natur zumeist nur in äußerst kleinen Konzentrationen, da ihre physiologische Wirkung oft schon durch kleinste Mengen ausgelöst wird. Voraussetzung für die Isolierung eines Hormons ist daher stets, daß eine ergiebige Quelle natürlichen Ausgangsmaterials zur Verfügung steht und daß Vorhandensein und jeweilige Konzentration des gesuchten Stoffes durch eine quantitative Nachweisreaktion, ein sog. Test, feststellbar sind. Nur in jenen Fällen, in denen diese Voraussetzungen gegeben waren, ist man bis zur Untersuchung des reinen Hormons vorgedrungen.

In der Übersicht sind die wichtigsten der heute bekannten Hormone mit ihren Bildungsstätten zusammengestellt.

I. Das Hormon des Nebennierenmarkes und des chromaffinen Gewebes: Adrenalin (Suprarenin, Epinephrin).

Physiologie. Das im Nebennierenmark erzeugte Adrenalin ist a) ein Reizmittel für den Sympathicus, es bewirkt Verstärkung des Herzschlages, Erhöhung der Herzschlagfrequenz, es wirkt verengernd auf die Blutgefäße und somit blutdrucksteigernd; Magen- und Darmperistaltik werden durch Adrenalin gehemmt, die Kontraktion des graviden Uterus gefördert; durch Anregung der Haarmuskulatur bringt es Sträuben der Haare hervor, am Auge beobachtet man nach Adrenalingaben Erweiterung der Pupille und der Lidspalten, sowie eine Vorwölbung des Auges; Adrenalin steigert die Sekretion von Tränen-, Speichel- und Schweißdrüsen. b) Adrenalin hat einen Einfluß auf das Blutbild: es bewirkt Erhöhung des Gehaltes an roten und weißen Blutkörperchen, c) Adrenalin beeinflußt den Zuckerstoffwechsel, es ruft Blutzuckersteigerung (Hyperglykämie) mit anschließender Ausscheidung von Zucker im Harn (Glykosurie) hervor.

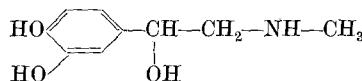
Vorkommen und Verbreitung. Adrenalin ist — wie alle übrigen Hormone — nicht artspezifisch; es wurde aus den Nebennieren fast aller Wirbeltierklassen isoliert und sein Vorkommen bei Anneliden und Mollusken konnte sehr wahrscheinlich gemacht werden. Der Gehalt der Nebennieren an Adrenalin schwankt, jedoch gilt als sichergestellt, daß das Hormon auf bestimmte Reize hin in vermehrtem Maße produziert und ausgeschüttet wird; es besteht eine gegenseitige Beziehung zwischen Adrenalinabgabe und Körperfunktion: das vermehrt abgegebene Hormon

beeinflußt die Körperfunktionen in dem Sinne, daß sie gesteigerten Ansprüchen genügen können.

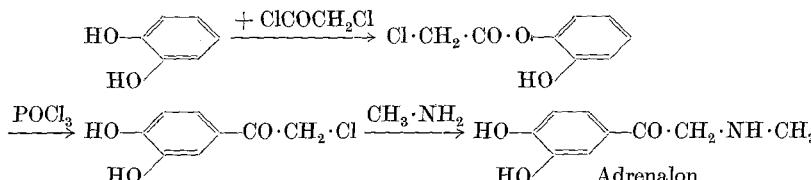
Test. Adrenalinhaltiges Gewebe ist durch eine Grünfärbung mit Ferrichlorid und durch eine dunkelbraune Farbreaktion mit Kaliumbichromat ausgezeichnet (*Vulpian* 1856, *Henle* 1865). Nachdem festgestellt wurde, daß physiologische Wirkung von Nebennierenextrakten und Intensität dieser Farbreaktionen parallel gehen, war ein einfacher chemischer Test auf Adrenalin in der colorimetrischen Methode gefunden, die seine Reindarstellung sehr erleichtert hat.

Isolierung. Die erste Isolierung des Adrenalin in chemisch reiner, krystallisierter Form gelang unabhängig voneinander *Aldrich* und *Takamine* im Jahre 1901¹. Die Darstellung ist heute einfach: aus 118 kg Nebennieren kann man etwa 125 g reines Adrenalin gewinnen; man extrahiert das zerkleinerte Gewebe mit verdünnter Essigsäure, versetzt das konzentrierte Filtrat mit Alkohol, engt nach dem Dekantieren nochmals ein und setzt unter Sauerstoffabschluß Ammoniak hinzu, worauf die Base auskrystallisiert; sie ist durch Umlösen zu reinigen².

Eigenschaften und Konstitution. Adrenalin, F. 216°, besitzt basische und saure Eigenschaften, es ist in Wasser 1:10000 löslich, in organischen Lösungsmitteln fast unlöslich, mit Säuren bildet es wasserlösliche Salze. Es besitzt starkes Reduktionsvermögen und ist leicht oxydierbar. Molekülformel: C₉H₁₃NO₃; das Stickstoffatom wird beim Kochen mit Jodwasserstoff als Methylamin abgespalten (deutet auf Anwesenheit der Gruppe CH₃NH); von den 3 Sauerstoffatomen liegt eines als sekundäre Alkoholgruppe, 2 liegen als leicht methylierbare, saure Hydroxylgruppen vor. Die Alkalischmelze lieferte Brenzcatechin und Brenzcatechin-p-carbonsäure. Aus diesen Befunden ergab sich für das Adrenalin die Konstitutionsformal³:



Diese Struktur wurde 1905 durch die Totalsynthese des Adrenalin gesichert⁴, die durch folgende Formelübersicht wiedergegeben sei:



¹ Amer. J. Physiol. 5, 457; 7, 359. — J. of Physiol. 27, 29. — ² B. 37, 1388. —

³ Fürth, v., Abel u. Friedmann: Z. physiol. Chem. 24, 142; 26, 15; 29, 105. —

Mo. 24, 261. — J. of Pharmacol. 3, 219. — Beitr. chem.-physiol. Path. 1, 242;

8, 95. — ⁴ Stoltz u. Dakin: B. 37, 4149. — J. of Physiol. 32, XXXIV.

Adrenalon, das in seinem pharmakologischen Verhalten dem Adrenalin bereits nahe steht, geht durch Behandlung mit Aluminiumamalgam in Adrenalin über. Das synthetische Produkt ist das Racemat, das natürliche Hormon ist linksdrehend. Die Spaltung des Racemates gelingt durch die Darstellung von Salzen mit optisch aktiver Weinsäure, die sich durch ihre Löslichkeit in CH_3OH unterscheiden. Die linksdrehende Form wirkt 12—15mal so stark wie die rechtsdrehende¹.

II. Das Hormon der Nebennierenrinde: Cortin (Interrenin).

Physiologie. Die Nebennierenrinde ist ein lebenswichtiges Organ, ihre vollständige Exstirpation führt unverzüglich den Tod herbei unter folgenden Erscheinungen: Muskelschwäche, Muskelkrämpfe, Abnahme der Atemfrequenz, allmähliche Eindickung des Blutes. Durch tägliche Verabreichung von Nebennierenrindenextrakten gelingt es, nebennierenlose Tiere (Katzen, Hunde) am Leben zu erhalten, ohne daß sie irgendwelche Krankheitserscheinungen zeigen; nach dem Aussetzen mit der (subcutanen, intraperitonealen oder intravenösen) Verabreichung der Extrakte tritt der Tod des Versuchstieres unter den angegebenen Symptomen ein (*Hartmann* 1928)². Als Funktion des Cortins wird die Regulierung und Aufrechterhaltung einer normalen Flüssigkeitsmenge innerhalb des Gefäßsystems angenommen. Bei Abwesenheit des Hormons sinkt das normale Blutvolumen wahrscheinlich, weil zuviel Flüssigkeit durch die Wandungen abgegeben wird; als Folge dieser Volumenabnahme beobachtet man beim Fehlen von Cortin Blutdruckabfall, Blutverdickung, Erhöhung der Zahl der roten Blutkörperchen, Erhöhung der Herzfrequenz, verminderter Nierentätigkeit, Zunahme des Harnstoffgehaltes im Blut. Eine Cortingabe bewirkt eine sofort einsetzende Verdünnung der Blutflüssigkeit und dadurch die Behebung der sekundären Insuffizienz-erscheinungen³.

Test. Als Testobjekt für den quantitativen Nachweis des Cortins dient der nebennierenlose Hund. Als „Hundeeinheit“ ist definiert die geringste tägliche Cortindosis pro Kilogramm Hund, die notwendig ist, um innerhalb einer Zeit von 7—10 Tagen das Versuchstier in physiologisch normalem Zustand zu erhalten. Als quantitativ meßbares Kriterium gilt der Stickstoffgehalt des Blutes, der durch ein Ansteigen über die Norm zuerst einen Mangel an Cortin anzeigen.

Herstellung wirksamer Extrakte, Isolierung des Cortins, Eigenschaften. Zur Herstellung wirksamer Extrakte wird Nebennierenrinde mit Methylalkohol extrahiert, die in Benzol und Aceton löslichen Anteile des

¹ Z. physiol. Chem. **58**, 189; **59**, 22, 129; **61**, 119; **62**, 404. — Pflügers Arch. **196**, 608; **210**, 462; **212**, 523. — ² Swingle u. Pfiffner: Medicine **11**, Nr 4 (1932). —

³ Science (N.Y.) **77**, 58.

Extraktes werden mit 70%igem Alkohol und Petroläther entmischt, die alkoholische Phase wird (zur Entfernung des Adrenalin) über Permutit filtriert und in wässrige Lösung übergeführt. Aus 40 g Nebenniere werden durch diesen Prozeß 40—80 Hundeinheiten in wässriger Lösung erhalten. Die so bereiteten Extrakte zeigen keinerlei Eiweiß- und keine Sterinreaktionen mehr, durch Erhitzen und durch Behandlung mit Alkali ist die Cortinwirksamkeit zu zerstören¹.

E. C. Kendall hat kürzlich über die Darstellung von Cortin in kristallisierter Form berichtet; wird die hochwirksame Lösung mit Natriumbisulfit versetzt und mit Äther überschichtet, so scheiden sich an der Grenzschicht Krystalle ab, die als Bisulfitverbindung des Cortins angesprochen werden. Das daraus regenerierte Krystallisat liefert mit Phenylhydrazin ein Osazon. Als Zusammensetzung des Cortins wird $C_{20}H_{30}O_5$ angegeben². Die Isolierung des Cortins in kristallisierter Form und die Angaben über seine chemischen Eigenschaften bedürfen der Bestätigung.

III. Das Hormon der Schilddrüse: Thyroxin.

Physiologie. Die Schilddrüse (Thyreoidea) hat eine tiefgreifende Bedeutung für die normale körperliche Entwicklung, für Wachstum und Stoffwechsel, sowie für die Ausbildung der geistigen Anlagen eines Organismus. Entfernung der Schilddrüse führt zur Athyreosis, die durch Symptome gekennzeichnet ist, wie man sie in den klinischen Bildern des Myxödems und des Kretinismus kennt: Anschwellen der Haut, schleimige Verquellung des Unterhautbindegewebes, Trockenheit der Epidermis, Schädigung der Haare, Nägel und Zähne, körperliche und geistige Schwerfälligkeit bis zur Verblödung; beim jugendlichen Organismus tritt noch eine deutliche Wachstumsverzögerung und Ausbleiben der Genitalentwicklung hinzu. Zu den äußeren Kennzeichen gesellen sich Herabsetzung des Stoffwechsels, Verlangsamung der Herzaktivität und ein Mangel an Regenerationsfähigkeit. — Bei Mensch und Tier sind die Erscheinungen der Athyreosis durch Einpflanzen von Schilddrüsen gewebe unter die Haut, in die Milz oder ins Peritoneum zu beheben. Hyperfunktion der Schilddrüse führt zu den Symptomen der Basedowschen Krankheit: Steigerung von Grundumsatz, Abmagerung, rege geistige Funktion, lebhafte Reflexe, weite Pupillen, vorgewölbte Augen. — Im Jahre 1895 machte *Baumann* die Entdeckung, daß die Schilddrüse regelmäßig Jod in einer alle anderen Organe weit überragenden Menge enthält³; er hat als erster nachgewiesen, daß dieses Jod in organischer Bindung vorliegt und mit der physiologischen Wirksamkeit der Schilddrüse im Zusammenhang steht.

¹ Medicine 11, Nr 4. — ² Federation of Amer. Soc. Exper. Biol., 28.—31. März 1934. — ³ Z. physiol. Chem. 21, 319.

Test. Das Hormon der Thyreoidea ist auf Grund seines Jodgehaltes durch eine einfache chemische Reaktion nachzuweisen: die quantitative Bestimmung dieses Elementes liefert einen leicht zu handhabenden „chemischen Test“ auf Schilddrüsenhormon. Über biologische Teste s. u.

Isolierung. Oswald (1896—1910) extrahierte Schilddrüsen mit physiologischer Kochsalzlösung und fällte aus diesem Extrakt durch Zusatz von gesättigter Ammonsulfatlauge eine Eiweißfraktion, in der sich das Hormon der Schilddrüse, das Thyreoglobulin, befand¹. E. C. Kendall stellte 1919 durch alkalische Hydrolyse ein Spaltprodukt des Thyreoglobulins in krystallisierter Form dar, das alle Schilddrüsenwirkungen entfaltet und den Namen Thyroxin erhalten hat². Die Darstellung des Thyroxins ist wesentlich verbessert von C. R. Harington (1926), dem wir auch die Konstitutionsermittlung und Synthese dieses Hormons ver danken³.

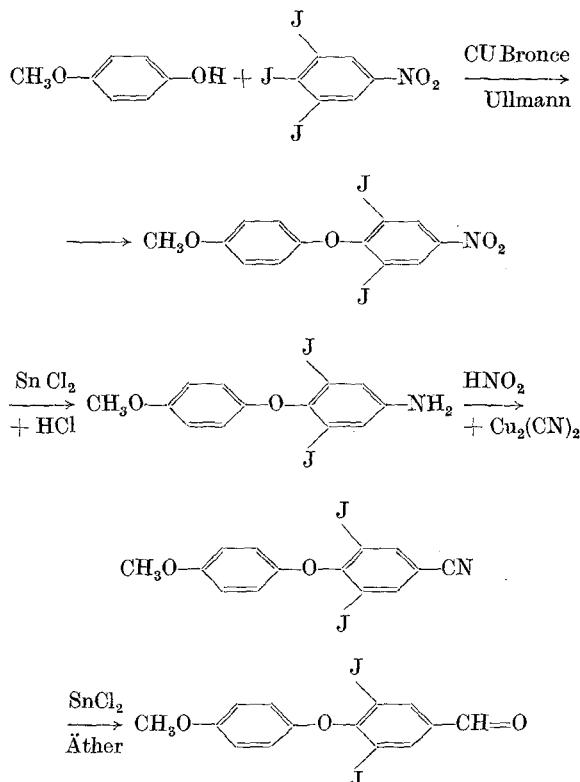
Zur Darstellung des Thyroxins aus der Schilddrüse verwendet man eine vorsichtige alkalische Hydrolyse des Gewebes mit Bariumhydroxyd (10%) und eine nachfolgende Verseifung durch 2%iges Natriumhydroxyd. Aus der alkalischen Lösung lassen sich Verunreinigungen durch Na_2SO_4 aussalzen, während das Hormon in Lösung bleibt, aus der es sich durch Ansäuern mit verdünnter Salzsäure fällen lässt. Eine weitgehende Reinigung dieses Produktes kann durch eine Wiederholung des Arbeitsganges unter geringer Variation erzielt werden. Aus 1 kg Trockenschilddrüse lässt sich etwa 1 g krystallisiertes Thyroxin in reiner Form gewinnen.

Konstitutionsermittlung und Synthese. Thyroxin zeigt die Zusammensetzung $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{O}_4\text{N}_4$, durch vorsichtige katalytische Hydrierung geht es in Desjodothyreoxin (Thyronin) $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{O}_4\text{N}$ über, das den Charakter einer α -Aminosäure, neben dem eines Phenols besitzt. Durch schmelzendes Alkali wird Thyronin in p-Oxy-benzoesäure, Hydrochinon, Oxalsäure und Ammoniak gespalten. Auf Grund dieser Befunde wurde für das Thyroxin die Konstitution (I) erschlossen, die durch Partialsynthesen einiger Abbauprodukte und schließlich durch die Totalsynthese des Thyroxins bewiesen wurde. Der Weg der Synthese ist aus den untenstehenden Formeln ersichtlich.

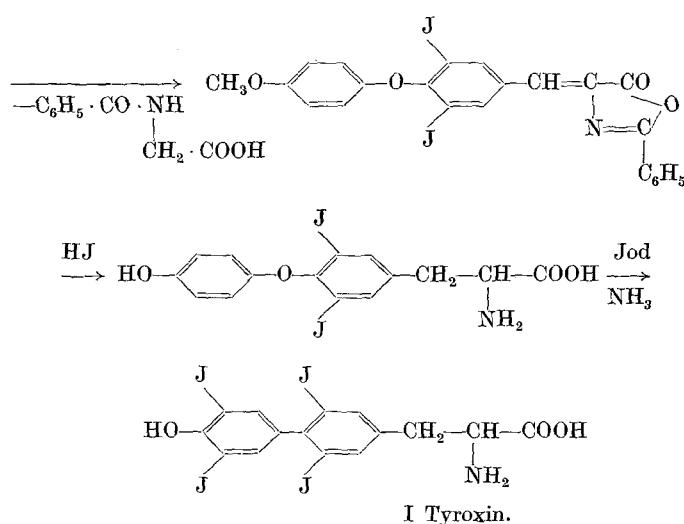
Der synthetische Stoff ist in allen Eigenschaften mit dem aus der Schilddrüse gewonnenen Präparat identisch, er besitzt auch alle typischen pharmakologischen Merkmale der Schilddrüse⁴.

Eigenschaften. Thyroxin ist unlöslich in Wasser, schwer löslich in organischen Lösungsmitteln. Mit Alkali bildet es wasserlösliche Salze,

¹ Z. physiol. Chem. **27**, 14. — ² J. of biol. Chem. **20**, 501. — ³ Biochemic J. **20**, 300; **21**, 169. — ⁴ Biochemic. J. **21**, 169, 181. — Pflügers Arch. **117**, 561. — J. of Physiol. **64**, 246.



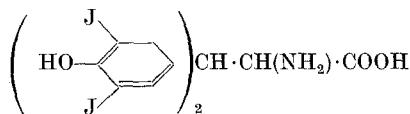
Methode v. Stephen:



während die Löslichkeit in verdünnter Säure gering ist. Der Jodgehalt beträgt 65,3%. Thyroxin zersetzt sich bei 231—233° unter Jodentwicklung, es besitzt ein typisches Absorptionsspektrum im Ultraviolet mit einem Maximum bei 325 m*. Das aus der Schilddrüse isolierte Thyroxin ist — wie das synthetische — optisch inaktiv. Mit Hilfe proteolytischer Fermente kann aus der Schilddrüse L-Thyroxin isoliert werden. Das synthetische Produkt ist in die beiden optischen Isomeren zerlegt worden, L-Thyroxin entfaltet eine etwa 3mal stärkere physiologische Wirkung als D-Thyroxin¹.

Pharmakologische Eigenschaften des Thyroxins. Thyroxin bewirkt eine Steigerung des Grundumsatzes, des Eiweiß- und Fettstoffwechsels; man erreicht durch Thyroxingaben eine Stoffwechselsteigerung um 15—20% unter starker Abmagerung und großem Gewichtsverlust der Versuchstiere. Thyroxin steigert die Erregbarkeit des Vagus und ruft so durch den Reiz von sympathischem und parasympathischem Nervensystem eine Mobilisierung von Adrenalin hervor, was das Auftreten von „Adrenalinwirkungen“ im Zuckerstoffwechsel und im Herz- und Blutgefäßsystem zur Folge hat. Thyroxin bewirkt eine Beschleunigung der Kaulquappen-Metamorphose (*Gudernatsch*), was auf die Bedeutung dieses Hormons für die Differenzierung der Gewebe und Organe hinweist; schilddrüsenlose Kaulquappen kommen nicht zur Metamorphose. An weißen Mäusen bewirkt Thyroxin eine Steigerung ihrer Resistenz gegen die Vergiftung mit Acetonitril; diese spezifische Wirkung kann ebenso zur biologischen Wertbestimmung des Thyroxins verwertet werden (*Reid-Hunt-Reaktion*) wie die Metamorphosebeschleunigung².

Die physiologische Wirkung des Thyroxins ist keine „Jodwirkung“, sondern eine spezifische Eigenschaft des Moleküls. Stoffe von Thyroxinstruktur, die an Stelle von Jod ein anderes Halogenatom tragen, stimmen qualitativ in ihrer Wirkung mit der des Thyroxins überein, andererseits hat das Thyroxin keine physiologische Wirkung mehr, ebenso ist das Thyroxinisomere der Formel



unwirksam³. Über Dibrom-, Dichlor-, Dijodthyronin, sowie über Tetra-brom- und Tetrachlorthyronin s. Helv. **12**, 405. — Z. exper. Med. **63**, 557; **68**, 563.

* Z. physiol. Chem. **169**, 223. — ¹ Biochemic. J. **22**, 1429; **24**, 456. — J. of Physiol. **68**, 382. — ² Biochem. Z. **101**, 196. — Pflügers Arch. **214**, 449. — J. of biol. Chem. **45**, 69. — Arch. Entw.mechan. **35**, 457; **41**, 47. — Amer. J. Physiol. **63**, 257.

³ Soc. **1929**, 892.

IV. Das Hormon der Bauchspeicheldrüse: Insulin.

Physiologie. Nach Entfernung der Bauchspeicheldrüse (dem Pankreas) tritt eine schwere Störung des Kohlehydratstoffwechsels auf (*v. Mering* und *Minkowski* 1889). Man beobachtet schon nach wenigen Stunden Ausscheidung von Traubenzucker im Harn; diese Glykosurie erreicht nach 3 Tagen ihren Höhepunkt, es wird dann bis zu 20% Traubenzucker ausgeschieden; auch bei zuckerfreier Diät verschwindet die Glykosurie nicht, sie entspricht dem Hauptsymptom des schweren Diabetes mellitus, der dadurch verursacht wird, daß die Leber die Fähigkeit verliert, Glucose als Glykogen zu retinieren; sekundär treten erhebliche Steigerungen und Störungen im Eiweiß- und Fettstoffwechsel auf, die zur Abmagerung und Ausscheidung von Acetonkörpern im Harn führen („Ketosis“). Dieser Pankreasdiabetes ist durch Einpflanzen von Bauchspeicheldrüse oder durch Verabfolgung eines Pankreasextraktes besonderer Herstellung (*Banting* und *Best* 1920) zu beheben: er ist bedingt durch den Mangel an dem in bestimmten Zellelementen („*Langerhanschen Inseln*“) erzeugten Hormon Insulin.

Test. Der Nachweis und biologische Standardisierung des Insulins beruhen auf seiner blutzuckersenkenden Wirkung, die auch am normalen Tier proportional der verabreichten Dosis auftritt. Als ursprünglich festgelegte „Insulineinheit“ galt diejenige Stoffmenge, die bei einem 2 kg schweren Kaninchen, das 24 Stunden ohne Nahrung gehalten wurde, den Blutzucker innerhalb von 4 Stunden nach der Injektion um die Hälfte (d. h. von 0,09% auf 0,045%) herabsetzte. Heute geschieht die Auswertung des Insulins durch Vergleich mit der Wirksamkeit eines „internationalen Standards“.

Isolierung des Insulins. Nach *J. B. Collip* läßt sich das Insulin aus Pankreasdrüsen mit angesäuertem Alkohol extrahieren. Dieses Rohextrakt wird durch Entfernung der Fette und Lipoide und der eiweißartigen Begleitstoffe des Hormons gereinigt; Fette und Lipoide werden durch Extraktion der in Alkohol löslichen Drüsanteile mit Äther entfernt, in dem Insulin sich nicht löst; die Ausscheidung unwirksamer Eiweißsubstanzen gelingt durch Aussalzmethoden in wässriger Lösung, Fällungen am isoelektrischen Punkt des Insulins (p_H 5—5,4), auch durch Zusatz von Pikrinsäure, Kaliumlactat und durch Adsorption des Insulins mit Hilfe von Benzoesäure oder Kohle und nachfolgende Elution¹.

J. J. Abel gelang 1925 die Darstellung des Insulins in krystallisierter Form². Zur essigsauren Lösung des gereinigten Insulins wurde Brucin hinzugefügt, nachdem Zusatz von Pyridin fällt ein abzentrifugierbarer

¹ Erg. Physiol. **23**, 213. — J. of biol. Chem. **55**, XL.; **57**, 709; **58**, 321; **60**, 31; **65**, 601; **81**, 167. — Amer. J. Physiol. **64**, 348; **100**, 285. — J. of Pharmacol. **25**, 423; **31**, 65. — Biochemic. J. **17**, 376; **18**, 147. — Klin. Wschr. **1925 II**, 1339. —

² J. of Pharmacol. **31**, 65; **32**, 367; **36**, 116.

unwirksamer Niederschlag, ein weiterer ist durch Hinzufügen von Ammoniak zu erzielen. Bei p_H 5,5 scheidet sich in ammoniakalischer Lösung beim Stehen krystallisiertes Insulin ab. Als Ausgangsmaterial zu seiner Darstellung dient die Bauchspeicheldrüse von Rind, Pferd, Schwein, Schaf und das Inselgewebe von Knochenfischen.

Eigenschaften des krystallisierten Insulins. Insulin ist linksdrehend, seine Dichte beträgt 1,315. 1 mg enthält 25 Einheiten. Die chemische Untersuchung ist vor allem von Abel und Jensen und von Freudenberg durchgeführt worden: krystallisiertes Insulin enthält ungefähr 53 % C, 6,8 % H, 21,7 % O, 15,4 % N und 3,14 % S, seine kleinste Summenformel könnte etwa durch den Ausdruck $C_{45}H_{69}O_{14}N_{11}S$ wiedergegeben werden, doch nimmt als niedrigstes Molgewicht ungefähr 20000 an; es handelt sich um einen Eiweißkörper, durch tryptische Verdauung oder durch saure Hydrolyse zerfällt er in Aminosäuren, von denen die folgenden isoliert worden sind: Cystin, Tyrosin, Arginin, Valin, Lysin, Leucin, Histidin, Glutaminsäure. — Tryptophan ist nicht aufgefunden worden. Der isoelektrische Punkt des Insulins liegt bei p_H 5—5,4; es ist thermostabil; kann demnach in wässriger Lösung sterilisiert werden. Gegen Alkali ist es wesentlich empfindlicher als gegen Säure¹.

Die physiologische Aktivität des Insulins ist offenbar an die Eiweißstruktur gebunden, es ist nicht gelungen, eine eiweißfreie, „prosthetische Gruppe“ von dem Gesamt molekül abzutrennen; nach Freudenberg ist es daher Aufgabe der Konstitutionsermittlung, „die wirksame Gruppe innerhalb des großen Eiweißmoleküls abzutasten“. Dieses „Abtasten“ ist mit Hilfe chemischer, physikalischer und enzymatischer Methoden in Angriff genommen worden und hat zu dem Schluß geführt, daß die wirksame Gruppe etwa 3 % des Gesamt moleküls ausmacht und selbst in ihrer Bindungsart Eiweißcharakter besitzt.

Methoden zur Ermittlung der „Wirksamen Gruppe“ des Insulins²:

a) *Chemische Methoden.* Insulin reagiert mit Formaldehyd unter Verlust seiner Wirksamkeit, es werden etwa 2 % CH_2O gebunden. Da eine gleiche Menge Formaldehyd von inaktiviertem Insulin verbraucht wird, kann die mit der aktiven Gruppe reagierende Menge nur sehr gering sein, d. h. die wirksame Gruppe ist äußerst rein. Durch warme verdünnte HCl wird der aufgenommene Aldehyd wieder abgespalten, unter teilweiser Regeneration der Wirksamkeit. Der Formaldehyd kann mit einer NH_2 - oder NH-Gruppe reagiert haben. — Durch Acetylierung erhält man aus Insulin ein Acetyl derivat, das fast alle Wirksamkeit eingebüßt hat; unter milden Bedingungen wird der Acetylrest wieder abgespalten, es entsteht ein vom Ausgangsmaterial verschiedenes

¹ J. of biol. Chem. **97**, 93; **98**, 281. — Z. physiol. Chem. **209**, 134. — Science (N.Y.) **1932**, 14. — ² Z. physiol. Chem. **180**, 212; **187**, 83; **202**, 128, 159, 192; **204**, 233; **213**, 226, 248.

Regenerat, das physiologisch aktiv ist. Aus Vergleichsversuchen über die Leichtigkeit der Verseifung wird geschlossen, daß die -COCH_2 -Gruppe, die in die aktive Gruppe eintritt, nur durch OH oder an NH (nicht durch NH_2) gebunden sein kann. — Die Einwirkung von n/30 Lauge bei 34° inaktiviert Insulin innerhalb von 3—4 Stunden, dabei tritt Abspaltung von NH_3 auf, die mit der Inaktivierung zum Stillstand kommt, und dem Wirksamkeitsabfall genau parallel geht. Es werden 0,16% NH_3 abgespalten, daraus ergibt sich für das Insulin ein Mindestmolgewicht von 8000—10000. — Durch Reduktion des Insulins mit Natrium-Amalgam tritt Inaktivierung ein, hierbei wird $\frac{1}{2}$ so viel Ammoniak entbunden, wie durch Alkali abgespalten werden kann; anschließende Einwirkung von Alkali führt zur Abspaltung der zweiten Hälfte NH_3 . Daraus wird gefolgert: Alkali spaltet 2 Mole NH_3 aus Insulin ab, eine der beiden NH_3 liefernden Gruppen muß reduktionsempfindlich sein; aus dieser Erkenntnis ergibt sich das Mindestmolgewicht des Insulins zu 16000—20000. — Insulin ist durch Einwirkung von Alkohol und Säure oder von Diazomethan zu verestern, der Ester ist physiologisch inaktiv, doch kehrt die Wirksamkeit nach der Verseifung zurück; Folgerung: an der aktiven Gruppe ist eine COOH-Gruppe beteiligt — Benzopersäure inaktiviert das Insulin, d. h. die aktive Gruppierung wird von Benzopersäure angegriffen; bei der Annahme, daß 1 Mol. Persäure mit der aktiven Gruppe reagiert, errechnet sich das Molgewicht zu 20000.

b) *Enzymatische Methoden.* Trypsin, Pepsin, Papain, Kathepsin, inaktivieren Insulin unter Spaltung der Eiweißkette. Die Verdauung mit Papain kann so geleitet werden, daß Inaktivierung von der Spaltung erfolgt, bemerkenswerterweise wird auch bei diesem Vorgang die gegen Alkali und Oxydation empfindliche N-haltige Gruppe angegriffen. Aus den enzymatischen Versuchen ist die eiweißartige Natur der aktiven Gruppe zu folgern, die zur Erfüllung ihrer Wirksamkeit ihrerseits in eine Eiweißkette eingebaut sein muß.

c) *Optische Methoden.* Insulin hat ein typisches Absorptionsmaximum bei 280 m, das sich nach Lage und Intensität auf Tyrosin und Cystin zurückführen läßt. Durch Verfolgen der Absorptionsänderungen bei den chemischen Umwandlungen ließ sich feststellen, daß jede Änderung der Absorption ein Verschwinden der physiologischen Aktivität anzeigen. — Parallel mit dem Wirksamkeitsabfall bei der Einwirkung von Alkali oder Reduktionsmitteln geht stets eine starke Änderung der optischen Drehung. Aus diesen Beobachtungen wird geschlossen, daß sich in der aktiven Gruppe ein leicht zu beeinflussendes Asymmetriezentrum befindet; es ist möglich, daß sich Tyrosin und Cystin am Bau dieser Gruppierung beteiligen.

Konstitution des Insulins. Aus den geschilderten Versuchen ergibt sich nach K. Freudenberg folgendes Bild von der Konstitution des Insulins: Es besteht aus einer wirksamen Gruppe und einem Eiweiß-

anteil, der der Menge nach im Molekül vorwiegt, aber für die physiologische Wirkung von untergeordneter Bedeutung ist. Die Abtrennung der wirksamen Gruppe ist nicht möglich, sie ist in die Eiweißkette eingebaut und ist keine dem Eiweißanteil artfremde Gruppe, sondern besteht aus einer den Eiweißbausteinen nahestehenden Anordnung von Aminosäuren oder nahen Abkömmlingen derselben. Die Eiweißketten des Insulins sind von verschiedener Länge und Gestalt; Krystallisation erfolgt nur, wenn die Ketten in Gestalt und Länge etwa übereinstimmen. Das Durchschnittsmolgewicht für Insulin beträgt etwa 20000, die Teilchengröße ist von *The Svedberg* im Sedimentationsversuch zu etwa 35000 ermittelt worden, so daß man sich vorstellen muß, daß 2 Ketten von der mittleren Länge eines Molgewichtes 20000 zusammenliegen, die, unter dem Einfluß wechselnder polarer Gruppen, sich wahrscheinlich zur Gestalt einer Kugel zusammenrollen. — Die wirksame Gruppe wird höchstens 3% des Moleküls ausmachen, es ist unbekannt, welche Aminosäuren sie bilden, aus spektroskopischen Gründen kann man an Tyrosin und Cystin denken. Im einzelnen ist ermittelt: Die wirksame Gruppe enthält eine Gruppierung, die 2NH_3 abspalten kann, es könnten empfindliche CONH_2 - oder C—NH-Gruppen sein; eine dieser Gruppierungen ist besonders labil, fast alle Reagenzien, die Insulin schädigen, greifen an dieser Gruppe an. Mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit kann man in der wirksamen Gruppe die folgenden Bindungen annehmen: NH, OH, COOH und 1 asymmetrisches C-Atom.
