

Mittheilungen

aus dem

analytisch-chemischen Laboratorium in Zürich.

(Juli 1861.)

I. Ueber den Xanthingehalt der Leber.

Von Prof. A. Almén von Upsala.

Das Xanthin, das man viele Jahre hindurch nur als Bestandtheil einiger seltener Harnsteine kannte, hat sich in neuerer Zeit, hauptsächlich durch die Untersuchungen von Cloëtta, Neukomm, Städeler und Scherer, als ein im Organismus weit verbreiteter Stoff erwiesen. Dem letztgenannten Forscher gelang es auch, das Xanthin von einigen ähnlichen Körpern, vom Hypoxanthin und Guanin zu trennen, wobei er das Verhalten der genannten Stoffe gegen verdünnte Salzsäure benutzte, worin das Xanthin äusserst schwer löslich ist, während sich Hypoxanthin und Guanin ohne Schwierigkeit darin auflösen. Im Pferdefleisch fand Scherer *) das Xanthin von einer überwiegenden Menge Hypoxanthin begleitet, in der Pancreasdrüse des Ochsens kam es zugleich mit Guanin vor.

Während meines Aufenthaltes in Zürich, im Sommer 1860, habe ich auf den Wunsch des Herrn Prof. Städeler die Leber des Ochsens auf ihren Gehalt an Xanthin und xanthinähnlichen Stoffen untersucht und dabei desselben Abscheidungsverfahren**) befolgt, das

*) Annalen der Chemie und Pharm. CXII. 257.

**) Vierteljahresschrift der Naturf. Gesellschaft in Zürich. V. 198. — Annalen der Chem. und Pharm. CXVI. 102.

derselbe bei seiner Untersuchung des Muskelfleisches und verschiedener Organe von Thieren in Anwendung brachte.

Fünf Kilogr. gehackte und mit Glaspulver fein zerriebene Ochsenleber wurden mit dem gleichen Gewicht Weingeist zu einem dünnen Brei angertührt und einige Zeit auf dem Wasserbade gelinde erwärmt. Darauf wurde gepresst und der Rückstand noch einmal mit Wasser von etwa 80° extrahirt. Beide Auszüge wurden vermischt, der Weingeist abdestillirt und die zurückbleibende trübe Flüssigkeit colirt und mit Bleizucker gefällt. Der entstandene Niederschlag war so schleimig, dass er sich nicht abfiltriren liess, er ging aber beim Erwärmen der Flüssigkeit zu einer zähen, fest am Boden haftenden Masse zusammen, in welcher weder Xanthin noch Hypoxanthin nachweisbar waren und von der sich die hellgelbe Flüssigkeit völlig klar abgiessen liess.

Als diese Flüssigkeit auf etwa 500 C. C. concentrirt wurde, schied sich eine dunkle huminartige Substanz ab, welche frei von Xanthin war. Die davon abfiltrirte braune Flüssigkeit wurde mit Bleiessig bis zur stark alkalischen Reaction versetzt, der reichliche Niederschlag nach 12stündigem Stehen auf einem Filtrum gesammelt und gewaschen und das Filtrat mit so viel essigsauerm Quecksilberoxyd vermischt, dass die Flüssigkeit noch eine schwach alkalische Reaction beibehielt. Der dadurch entstandene gelblich-weiße Niederschlag färbte sich allmählig grau durch Reduction von Quecksilber. Er wurde nach 12stündigem Stehen auf einem Filtrum gesammelt und gewaschen.

Aus der von diesem Niederschlage abfiltrirten und durch Schwefelwasserstoff von Blei und Quecksilber

befreiten Flüssigkeit konnte nach erfolgter Concentration durch Neutralisation mit kohlelsaurem Natron und Kochen mit essigsäurem Kupferoxyd kein Xanthin oder Hypoxanthin mehr gefällt werden; diese Körper mussten somit vollständig in den durch Bleiessig und durch essigsäures Quecksilberoxyd entstandenen Niederschlägen enthalten sein.

Der durch Bleiessig entstandene Niederschlag wurde in Wasser suspendirt, mit Schwefelwasserstoff zersetzt, siedend filtrirt und das Schwefelblei noch einmal mit Wasser ausgekocht. Aus den Filtraten schieden sich beim Eindampfen Xanthinkrusten ab, die nach etwa 36stündigem Stehen auf einem Filtrum gesammelt wurden. Sie zeigten nur geringe Färbung und wogen getrocknet 0,598 Grm. — Die zum Syrup verdampfte Mutterlauge, die nicht ganz unbedeutend war, setzte bei längerem Stehen schöne farblose Krystalle ab, die sich durch Form, Löslichkeitsverhältnisse und Reaction als Inosit zu erkennen gaben.

Der Quecksilberniederschlag wurde auf gleiche Weise wie die Bleiverbindung mit Schwefelwasserstoff zersetzt und das farblose Filtrat auf ein sehr kleines Volumen verdunstet, wobei körnige, auf der Oberfläche umherschwimmende Krusten sich abschieden. Sie wurden nach 36stündigem Stehen gesammelt. Ihr Gewicht betrug 0,403 Grm. Aus der Mutterlauge konnte kein Xanthin mehr erhalten werden.

Die aus beiden Niederschlägen erhaltene Xanthinmenge betrug nach den obigen Angaben 1,001 Grm., also 0,02 Proc. vom Gewicht der Leber; es unterliegt aber keinem Zweifel, dass diese Bestimmung etwas zu niedrig ausgefallen ist.

Um eine genauere Bestimmung zu machen und

um zugleich eine zur Prüfung auf Hypoxanthin und Guanin genügende Menge des rohen Xanthins zu erhalten, wurden noch einmal 26 Kilogr. Ochsenleber in Arbeit genommen. Das Verfahren dabei war das schon angegebene, nur wurde eine gesonderte Untersuchung des weingeistigen und des wässerigen Auszuges vorgenommen. Auch wurden die Niederschläge, um sie möglichst von anhängender Mutterlauge zu befreien, zwischen Papier gepresst, dann mit wenig Wasser angerieben und noch einige Male filtrirt und gepresst, ehe sie mit Schwefelwasserstoff zersetzt wurden.

Die Ausbeute an Xanthin-Körpern betrug 6,24 Grm., also 0,024 Proc. vom Gewicht der Leber, was fast genau mit der Quantität übereinstimmt, die von Städeler mittelst Bleiessig und essigsanrem Quecksilberoxyd aus Hundefleisch abgetrennt wurde. — Der weingeistige Auszug gab eine reichlichere Ausbeute wie der wässerige; das Verhältniss war fast genau 3 : 2. Die Quantitäten im Blei- und im Quecksilberniederschlag fallen sehr wechselnd aus; setzt man die im Bleiniederschlag enthaltene Xanthinmenge = 1, so ergaben sich aus den angestellten drei Versuchen die Zahlen 1 : 0,67, 1 : 0,8 und 1 : 2,13. Je concentrirter die mit Bleiessig zu fallende Lösung ist und je länger man den Niederschlag stehen lässt, um so reicher ist er an Xanthin oder xanthinähnlichen Körpern.

Zur Reinigung wurden die erhaltenen Krystallisationen ($7\frac{1}{4}$ Grm.) in verdünntem Ammoniak gelöst und mit kohlensaurem Ammoniak vermischt. Bei der Lösung blieb etwas oxalsaurer Kalk zurück und durch das kohlensaure Ammoniak entstand ein geringer Nieder-

schlag von kohlensaurem Kalk. Die davon abfiltrirte Flüssigkeit wurde in gelinder Wärme verdunstet, worauf sich die gelösten Stoffe theils in Krusten, theils als gelbliches oder fleischfarbenedes Pulver abschieden. Durch diese Reinigung hatte das Gewicht um 0,24 Grm. abgenommen.

Um etwa vorhandenes Hypoxanthin oder Guanin vom Xanthin zu trennen, wurde eine Kochung mit 400 C. C. verdünnter Salzsäure (1 Theil conc. Säure und 5 Theile Wasser) vorgenommen und das Ganze 12 Stunden lang bei Seite gestellt. Die Lösung, welche das Hypoxanthin oder Guanin enthalten musste, wurde vom Xanthin abfiltrirt und lieferte beim Verdampfen gelbliche Krusten, die unter dem Mikroskop ganz die Formen des salzsauren Xanthins zeigten. Auch die von den Krusten abfiltrirte Mutterlauge lieferte beim Verdampfen nicht die nadelförmigen Krystalle des salzsauren Hypoxanthins oder Guanins, und selbst die zuletzt anschliessenden Krystalle gaben nicht die von Scherer angegebene Reaction des reinen Hypoxanthins, sondern ganz die des Xanthins; mit Salpetersäure verdampft blieb ein citrongelber Fleck, der beim Befeuchten mit Natron hochroth und beim Erwärmen violett wurde. — Demnach schien also neben Xanthin keine wesentliche Menge von Hypoxanthin oder Guanin in der Leber vorzukommen, was noch weiter durch die Elementaranalyse dargethan wurde.

Um das Xanthin von Farbstoff zu befreien, wurde es in mässig verdünnter heisser Salzsäure gelöst, mit Blutkohle digerirt und das Filtrat eingedampft. Es schied sich bald eine reichliche Menge farbloser Krystalle ab, die ganz die Form des von Prof. Städeler aus dem

Langenbeck'schen Xanthinstein dargestellten salzsaurer Xanthins besaßen. Diese Krystalle wurden einige Male mit Wasser gewaschen, dann in Ammoniak gelöst und zur Trockne verdampft. Nachdem der beigemengte Salmiak mit kaltem Wasser ausgezogen war, blieb das Xanthin völlig weiss zurück. Beim Erhitzen auf Platinblech zersetzte es sich ohne zu schmelzen; bei 115° zeigte es keine merkliche Gewichtsabnahme.

0,419 Grm. der getrockneten Substanz gaben, mit Kupferoxyd und regulinischem Kupfer, zuletzt im Sauerstoffstrome verbrannt, 0,6028 Grm. Kohlensäure und 0,104 Grm. Wasser.

Diese Verhältnisse stimmen mit der Zusammensetzung des Xanthins überein:

	berechnet		gefunden
10 Aeq. Kohlenstoff	60	39,48	39,24
4 „ Wasserstoff	4	2,63	2,76
4 „ Stickstoff	56	36,84	
4 „ Sauerstoff	32	21,05	
	<hr/> 152.		100,00.

Bei der Entfärbung des Xanthins mittelst Kohle war eine sehr ansehnliche Menge, etwa $\frac{3}{4}$ von der ganzen Ausbeute verloren gegangen. Es wurde so hartnäckig von der Kohle zurückgehalten, dass es mit siedendem Wasser nicht ausziehbar war und auch von Ammoniak wurde es nur langsam aufgenommen. Nach achtmaliger Behandlung mit erwärmter Ammoniakflüssigkeit konnte aus der Kohle noch eine kleine Menge mit Natron ausgezogen werden.

Auch das mit Ammoniak extrahirte Xanthin wurde völlig farblos erhalten. Bei der Verbrennung lieferten 0,4079 Grm. der bei 115° getrockneten Substanz 0,5881 Grm. Kohlensäure und 0,1025 Grm. Wasser.

Dies gibt in Procenten:

Kohlenstoff 39,32

Wasserstoff 2,79.

Die Uebereinstimmung zwischen beiden Analysen ist so vollständig, dass kein Zweifel darüber sein kann, dass auch der von der Kohle zurückgehaltene Körper nur aus Xanthin bestand.

Einige Versuche, die ich über die Löslichkeit des Xanthins in Wasser anstellte, führten zu folgenden Resultaten.

Ueberschüssiges Xanthin wurde in einem Kolben $\frac{3}{4}$ Stunden lang mit Wasser gekocht, dann lose mit Papier bedeckt und unter bisweiligem Umschütteln 48 Stunden an einen 16° warmen Ort gestellt. — 75 C.C. des klaren Filtrats gaben, abgedampft und bei 100° getrocknet, 0,0053 Grm. Rückstand. 1 Thl. Xanthin bedarf demnach 14,151 Thle. Wasser von 16° zur Lösung. — Bei einem zweiten Versuch hinterliessen 105 C.C. Lösung, die auf gleiche Weise bereitet war, 0,0072 Grm. Xanthin. Auf 1 Thl. Xanthin kamen also 14,583 Thle. Wasser.

Um die Löslichkeit des Xanthins in siedendem Wasser zu bestimmen, wurde eine Stunde lang gekocht und siedend filtrirt. Das klare Filtrat trübte sich sogleich beim Abkühlen. 51,23 Grm. der Lösung lieferten beim Abdampfen 0,0342 Grm. Xanthin. Bei einem zweiten Versuch wurden von 52,124 Grm. der Lösung 0,039 Grm. Xanthin erhalten. Demnach waren in einem Falle 1498 Thle., im anderen 1336 Thle. siedendes Wasser zur Lösung von 1 Thl. Xanthin erforderlich.

Nach Städeler's Versuchen bedarf das mit dem Langenbeck'schen Xanthinstein dargestellte Xanthin in

runden Zahlen 14000 Thle. kaltes und 1200 Thle, siedendes Wasser zur Lösung. — Die nahe Uebereinstimmung lässt über die Idealität des Leber-Xanthins und des Xanthins aus Harnsteinen keinen Zweifel. — Dass das Xanthin bei wiederholter Behandlung mit Wasser allmählig schwerer löslich werde, wie Scherer angibt, habe ich nicht beobachtet.

Ich versuchte schliesslich noch eine Verbindung des Xanthins mit Salzsäure darzustellen, indem ich über die bei 100° getrocknete Substanz zuerst bei gewöhnlicher Temperatur, dann bei 110—120° trockenes Salzsäuregas leitete. In beiden Fällen wurde aber keine Gewichtszunahme wahrgenommen. Ganz leicht wurde dagegen die Verbindung erhalten, als das Xanthin mit concentrirter Salzsäure zur Trockne verdampft wurde. 100 Thle. Xanthin gaben bei dieser Behandlung 122,81 Thle. salzsaures Xanthin. Nach der Formel $C_{10} H_4 N_4 O_4 \cdot HCl$ müssen 100 Thle. Xanthin 124,01 Thle. des salzsauren Salzes geben.

Ich verdanke der Güte des Hrn. Prof. Städeler eine Quantität der von ihm aus Hundefleisch dargestellten xanthinähnlichen Körper, die mir von demselben zur Prüfung auf Xanthin und Hypoxanthin übergeben wurden.

Die fleischfarbene Masse löste sich in Ammoniak, dem etwas kohlen-saures Ammoniak zugesetzt worden war, mit schwacher Trübung und beim Verdunsten der filtrirten Lösung schieden sich die Xanthinkörper in Form eines feinen gelben Pulvers wieder ab. Dieses löste sich leicht und vollständig in verdünnter Salzsäure und konnte durch wiederholte Krystallisation von einem braunen Farbstoff, der in der Mutterlauge blieb, getrennt werden. Beim raschen Verdampfen

der salzsauren Lösung schied sich das Salz in ähnlichen Formen wie das salzsaure Xanthin ab; wurde dagegen langsam verdunstet, so krystallisirte es vom Boden der Schale aus in regelmässigen mehrere Linien langen Prismen.

0,345 Grm. des über Schwefelsäure und Kalihydrat getrockneten Salzes verloren bei 100° nur sehr unbedeutend an Gewicht, bei 115° trat dagegen eine bedeutende, wenn auch langsame Gewichtsverminderung ein, bei 135° wurde das Gewicht constant. Die Abnahme betrug 0,0315 Grm. = 9,13 Proc.

Als das Salz darauf noch 1½ St. bei 145° getrocknet wurde, verlor es nur noch 1 Milligrm. und bei 155° 5 Milligrm. Diese Gewichtsabnahme war von einem Verlust an Salzsäure begleitet.

Der Säuregehalt des über Schwefelsäure und Kalihydrat getrockneten Salzes wurde mittelst tritirter Ammoniakflüssigkeit bestimmt. 1,274 Grm. des Salzes enthielten 0,2545 Grm. Chlorwasserstoff = 19,98 Proc.

Diese Zahlen stimmen mit der Formel des salzsauren Hypoxanthins: $C_{10} H_4 N_4 O_2 \cdot HCl + 2 aq.$ überein.

	berechnet		gefunden
1 Aeq. Hypoxanthin	136	71,39	70,89
1 „ Salzsäure	36,5	19,16	19,98
2 „ Wasser	18	9,45	9,13
	<hr/>		
	190,5.	100,00.	100,00.

Um das Hypoxanthin rein darzustellen und dasselbe auf einen möglichen Gehalt an Xanthin zu untersuchen, wurde das mit Ammoniak vermischte salzsaure Salz verdampft und aus dem Rückstande der vorhandene Salmiak mit kaltem Wasser und Weingeist ausgezogen. Das zurückbleibende völlig weisse Hy-

poxanthin wog nahezu 1 Grm. Da dasselbe nach Streckers Versuchen 300 Thle. kaltes Wasser zur Lösung bedarf, während zur Lösung des Xanthins 14,000 Thle. Wasser erforderlich sind, so wurde auf dies sehr abweichende Verhalten die Trennung gegründet. Es wurde daher in 300 Theilen siedendem Wasser gelöst und die Lösung 12 Stunden lang bei Seite gestellt. Während dieser Zeit trat aber keine Trübung ein und ich glaube daher auf die Abwesenheit von Xanthin schliessen zu müssen. Da die Analyse noch weiteren Aufschluss darüber geben konnte, so wurde die Lösung zu Trocken verdampft und der bei 110° getrocknete Rückstand analysirt.

0,3465 Grm. gaben bei der Verbrennung 0,5588 Grm. Kohlensäure und 0,0925 Grm. Wasser.

			berechnet		gefunden
10	Aeq.	Kohlenstoff	60	44,12	43,98
4	„	Wasserstoff	4	2,94	2,97
4	„	Stickstoff	56	41,18	
2	„	Sauerstoff	16	11,76	
			<hr/>		
			136.		100,00.

Dieser Analyse zufolge war der aus Hundefleisch erhaltene Körper reines Hypoxanthin und bedurfte auch, in naher Uebereinstimmung mit Streckers Angabe, 73 Thle. siedendes Wasser zur Lösung. Beim Verdampfen mit verdünnter Salpetersäure auf Platinblech und Befeuchten des Rückstandes mit Natron, gab es dieselbe Reaction wie Xanthin und Guanin.

Es verdient noch bemerkt zu werden, dass das Hypoxanthin beim Erhitzen auf Platinblech während der Zersetzung schmilzt, was beim Xanthin nicht der Fall ist. Durch dies abweichende Verhalten sind beide Körper leicht zu unterscheiden.