

Verhalten nach ein Aminodi-*p*-chlorphenylguanidin, $\text{NH}_2 \cdot \text{N} : \text{C} : (\text{NH} \cdot \text{C}_6\text{H}_4\text{Cl})_2$, sein dürfte.

$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{Cl}_2$. Ber. H 4.05, C 52.88, N 18.98, Cl 24.07.

Gef. » 4.21, » 52.58, » 19.00, » 24.46.

Wir gedenken demnächst im Zusammenhange ausführlicher darüber zu berichten.

431. Martin Krüger: Ueber den Abbau des Caffeins im Organismus des Hundes.

[Aus der Kgl. medicinischen Klinik der Universität Breslau.]

(Eingeg. am 17. October; mitgetheilt in der Sitzung von Hrn. W. Marckwald.)

Die Ausscheidung der Purinkörper¹⁾ aus dem menschlichen Organismus ist für die physiologische und pathologische Chemie von hohem Interesse. Hofft man doch, durch Bestimmung ihrer Menge einen Maassstab für den Zerfall gewisser thierischer Elemente, der weissen Blutkörperchen, zu gewinnen. Diese Zellen enthalten in ihren Nucleinstoffen die vier Purinbasen: Guanin, Xanthin, Adenin und Hypoxanthin, welche beim Zerfall ihrer Muttersubstanzen zum Theil unverändert in den Harn übergehen, zum Theil zu Harnsäure oxydirt den Organismus verlassen. Nun sind aber im menschlichen Urin eine Anzahl von Purinbasen gefunden worden, welche nicht Bestandtheile der Nucleinstoffe sind: es sind das die drei methylirten Xanthine, 1,7-Dimethylxanthin (Paraxanthin), 7-Methylxanthin (Heteroxanthin) und 1-Methylxanthin, ferner ein methylirtes Guanin, 7-Methylguanin (Epiguanin).

Die bis vor wenigen Jahren in völliges Dunkel gehüllte Herkunft der letztgenannten vier Basen ist durch die unabhängig von einander ausgeführten Untersuchungen von Albanese²⁾, von Bondzyński und Gottlieb³⁾ aufgeklärt worden. Letztere haben nach Verfütterung von Theobromin bei Hunden, Kaninchen und Menschen, sowie nach Verfütterung von Caffein ein Monomethylxanthin erhalten, welches später als Heteroxanthin⁴⁾ erkannt wurde. Denselben Körper vermuthete

¹⁾ Als Muttersubstanz der zu dieser Gruppe gehörenden Körper, für welche in den letzten Jahren in der physiologischen Chemie der von Kossel und Krüger vorgeschlagene Name »Alloxurkörper« gebräuchlich war, ist von E. Fischer das »Purin« erkannt und synthetisch dargestellt und demnach der ganzen Gruppe der Name »Purinkörper« beigelegt worden. Zur Einführung einer einheitlichen Nomenclatur empfiehlt es sich daher, diesen Namen auch in die physiologische Chemie aufzunehmen.

²⁾ Arch. f. exper. Path. und Pharmac. 35, 449. ³⁾ ibidem 36, 45.

⁴⁾ ibidem 37, 385.

Albanese, beim Hunde aus Caffein und Theobromin erhalten zu haben. Diese ersten Angaben der genannten Autoren erwiesen sich als nicht ganz richtig. Das Monomethylxanthin, welches aus Caffein beim Hunde entsteht, hat Albanese¹⁾ inzwischen als 3-Methylxanthin erkannt; ich bin unabhängig von Albanese zu demselben Resultate gelangt. Nach Krüger und Schmidt²⁾ entstehen aus Theobromin die beiden Monomethylxanthine, 3- und 7-Methylxanthin; beim Kaninchen findet sich der Hauptmenge nach 7-Methylxanthin, beim Hunde überwiegt 3-Methylxanthin.

Jedenfalls haben die Untersuchungen von Albanese, Bondzynski und Gottlieb zuerst die wichtige Thatsache festgestellt, dass bei allen, bisher zum Versuche benutzten Thieren eine Entmethylierung von Caffein und Theobromin stattfindet. Dasselbe Schicksal erleidet 1.7-Dimethylxanthin, welches nach Krüger und Schmidt theilweise in 1-Methylxanthin übergeht. Auf Grund constitutioneller Aehnlichkeit zwischen Caffein und Theobromin hat E. Fischer die Vermuthung ausgesprochen, dass Caffein in derselben Weise 1.7-Dimethylxanthin (Paraxanthin) liefern kann, wie Theobromin das 7-Methylxanthin, nämlich unter Abspaltung der in 3-Stellung befindlichen Methylgruppe. Der experimentelle Beweis hierfür fehlt noch.

Albanese will nach Caffeinverabreichung beim Menschen ein Dimethylxanthin³⁾ erhalten haben. 2 g Caffein lieferten ihm bei einem Versuche, welchen er an sich selbst anstellte, 0.2 g einer »weissen, pulverartigen, sehr schweren Substanz, welche aus heissem Wasser nicht in den für das Monomethylxanthin charakteristischen Nadeln, sondern in mikroskopisch kleinen, krystallinischen Fragmenten« sich ausschied. Der Stickstoffgehalt betrug 31.00 pCt. (berechnet für ein Dimethylxanthin 31.11 pCt.). Der Beschreibung nach konnte die Substanz Theobromin gewesen sein; nach Art der Isolirung aber — Fällung mit Kupferacetat — ist dieser Körper ausgeschlossen, da, wie Albanese selbst angiebt⁴⁾, Theobromin durch Kupferacetat nicht niedergeschlagen wird. Die beiden anderen Dimethylxanthine ferner, 1.3-Dimethylxanthin (Theophyllin) und 1.7-Dimethylxanthin (Paraxanthin), krystallisiren in makroskopischen, sehr schönen Säulen und Nadeln (letzteres auch in Tafeln). Mithin hat Albanese ein Gemisch oder einen unreinen Körper in Händen gehabt, der zufällig den Stickstoffgehalt eines Dimethylxanthins zeigte.

Ich habe zur Auffindung der Zwischenproducte beim Abbau des Caffeins bis zu einem Monomethylxanthin den Versuch mit Caffein wiederholt, und zwar gleichfalls bei Hunden, einmal, weil diese Thiere starke Gaben des Körpers vertragen und daher innerhalb kurzer Zeit

¹⁾ Diese Berichte 32, 2280.

²⁾ Diese Berichte 32, 2677.

³⁾ Arch. f. exper. Path. u. Pharmak. 35, 461.

⁴⁾ Ibidem S. 465.

grosse Mengen verfüttert werden können, dann auch, um die Identität des von Albanese erhaltenen Monomethylxanthins mit 3-Methylxanthin nachzuweisen.

Einem grossen Hunde wurden bei ausschliesslicher Fleischnahrung in der Zeit vom 7.—11. Juli 6 g Caffeïn eingegeben. Der bis zum 12. Juli Morgens gelassene Harn wurde in der im experimentellen Theil beschriebenen Weise verarbeitet. Die schliesslich erhaltene Lösung der freien Basen wurde nach dem Einengen auf etwa 40 cm siedend heiss mit einer heissen Lösung von 2 g Aetzbaryt in Wasser versetzt. Das sich sofort ausscheidende, schwer lösliche Baryumsalz wurde nach dem Erkalten der Flüssigkeit abfiltrirt und mit Barytwasser gewaschen. Durch Umsetzen mit Ammoniumcarbonat und Eindampfen der alkalischen Lösung wurde die freie Base in glänzenden Prismen in einer Menge von 0.215 g erhalten. Die aus Wasser plus wenig Salzsäure umkrystallisirte Substanz ergab bei der Analyse folgende Zahlen:

0.0688 g, nach Kjeldahl behandelt, verbrauchten 16.5 ccm $\frac{1}{10}$ -norm. Oxalsäure.

$C_8H_8N_4O_2$. Ber. N 33.73. Gef. N 33.58.

Da der Körper kein schwerlösliches Natriumsalz, mit Barytwasser in der Wärme aber sofort glänzende, sechsseitige Blättchen eines Baryumsalzes ausschied, so lag 3-Methylxanthin vor. Neben dieser Substanz wurde noch ein Gemisch von 0.297 g anderer Basen gefunden.

Ein in grösserem Maassstabe mit 50.5 g Caffeïn ausgeführter Versuch ergab ein ganz überraschendes Resultat. Es gelang, neben unverändertem Caffeïn und dem erwähnten 3-Methylxanthin, alle drei Dimethylxanthine: Theobromin, Paraxanthin und, Theophyllin, mit Sicherheit nachzuweisen. Die Menge dieser Körper betrug auf 100 g verfüttertes Caffeïn umgerechnet: 6.6 g Caffeïn, 1.9 g Theobromin und 4.61 g 3-Methylxanthin. Da beim Paraxanthin und Theophyllin zunächst das Vorhandensein derselben constatirt und eine geeignete Trennungsmethode gesucht werden musste, so stehen bei diesen Verbindungen die ermittelten Werthe hinter den thatsächlich ausgeschiedenen Quantitäten zurück. Doch das hat sich mit Sicherheit ergeben: die Ausscheidung des Paraxanthins erreicht höchstens die des Theobromins, Theophyllin dagegen, von welchen bei meinem Versuche 7.4 g (auf 100 g Caffeïn umgerechnet) gefunden wurden, spielt unter den Dimethylxanthinen die Hauptrolle.

Durch diese Ergebnisse ist für den Organismus des Hundes der Abbau des Caffeïns klargelegt. Das Molekül desselben wird von allen 3 Methylgruppen aus in Angriff genommen; doch ist wie beim Theobromin (3.7-Dimethylxanthin) die 7-Methylgruppe am wenigsten widerstandsfähig, und es entsteht durchaus analog: aus Caffeïn Theo-

phyllin, wie aus Theobromin 3-Methylxanthin entstanden war. Nur als Nebenproducte treten die beiden anderen Dimethylxanthine, Paraxanthin und Theobromin, auf; bei ersterem ist die 3-Methylgruppe, bei letzterem die 1-Methylgruppe des Caffeïns verschwunden.

Die geringe Menge des ausgeschiedenen Theobromins erklärt nach den Untersuchungen von M. Krüger und P. Schmidt vollauf, weshalb Heteroxanthin (7-Methylxanthin) nicht unter den Stoffwechselproducten des Caffeïns gefunden wurde, da es zweifellos nur in minimaler Menge entstehen wird, und lässt die Vermuthung zu, dass die Hauptmenge des 3-Methylxanthins aus einem anderen Dimethylxanthin als Theobromin, nämlich dem 1.3-Dimethylxanthin (Theophyllin), stammen wird, sodass der Abbau des Caffeïns der Hauptrichtung nach über Theophyllin zum 3-Methylxanthin verläuft.

Ob 1-Methylxanthin, welches vom Theophyllin und Paraxanthin sich ableiten würde, unter den Stoffwechselproducten das Caffeïn vorkommt, ist noch nicht sicher festgestellt.

Bemerkenswerth erscheint noch die Thatsache, dass Theophyllin und Theobromin, die bisher nur in Pflanzenextracten gefunden sind, auch Producte des thierischen Organismus sein können. Sollte vielleicht auch in der Pflanze ein ähnlicher Abbau des Caffeïns zu den beiden Dimethylxanthinen oder umgekehrt ein Aufbau der letzteren zum Caffeïn, wodurch das gleichzeitige Auftreten der drei Verbindungen erklärt würde, stattfinden?

Experimenteller Theil.

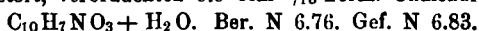
50.5 g Caffeïn wurden in der Zeit vom 15. Juli bis 4. August an zwei grosse Hunde verfüttert. Drei Viertel des täglich angefangenen Harnes wurden mit Kupfersulfat und Natriumbisulfit ausgefällt, der Rest für die Phosphorwolframsäurefällung gesammelt und mit Thymol versetzt.

A. Phosphorsäurefällung.

Da Caffeïn und Theobromin weder durch ammoniakalische Silberlösung noch durch Kupferoxydulsalze gefällt werden, so wurde, zur Isolirung dieser Basen, der Harn mit Schwefelsäure angesäuert und mit Phosphorwolframsäure behandelt, so lange noch ein Niederschlag entstand. Derselbe wurde in der Kälte mit Barytwasser zersetzt, darauf Kohlensäure eingeleitet und jetzt erst die Flüssigkeit auf dem Wasserbade erwärmt und heiss filtrirt. Das auf ein geringes Volumen eingeeengte Filtrat gab auf Zusatz von Schwefelsäure eine reichliche Ausscheidung von Kynurensäure, welche durch Lösen in Soda und nochmalige Fällung mit Säuren in einer Menge von 2.66 g rein erhalten wurde. Die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl, selbst un-

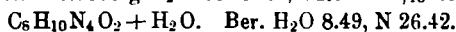
ter Zusatz von Kaliumsulfat und Kupfersulfat ausgeführt, ergab zu niedrige Werthe; es wurden bei Anwendung von 0.2065 g Substanz statt 6.76 pCt. Stickstoff nur 5.90 pCt. Stickstoff erhalten.

0.2028 g Substanz, mit 15 ccm concentrirter Schwefelsäure und Kaliumbichromat zerstört, verbrauchten 9.9 ccm $\frac{1}{10}$ -norm. Oxalsäure.



Bei dem Versuche, aus dem Filtrate der Kynurensäure Caffeïn und Theobromin von den anderen Purinkörpern durch ammoniakalische Silberlösung zu trennen, zeigte sich, dass dem isolirten Theobromin noch erhebliche Reste als Silber- und Kupferoxydul-Verbindungen fällbarer Basen anhafteten. Dagegen gelang die Trennung leicht mit Hilfe von Kupfersulfat und Natriumbisulfit; auch hier zeigte sich die Ueberlegenheit des Kupferreagens über die Silberfällung. Das Filtrat vom Kupferniederschlage wurde durch Schwefelwasserstoff vom Kupfer befreit und nach dem Eindampfen auf ein geringes Volum mit Chloroform vollständig erschöpft. Der Rückstand der chloroformischen Lösung, in Wasser gelöst, gab auf Zusatz von Silbernitrat eine Fällung, welche durch Ammoniak zunächst vermehrt, durch einen kleinen Ueberschuss desselben aber sofort gelöst wurde. Nach dem Wegkochen des Ammoniaks wurde das Theobrominsilber von der erkalteten Flüssigkeit abfiltrirt und das Filtrat, welches mit Salzsäure angesäuert war, wiederum mit Chloroform extrahirt. Der Rückstand des chloroformischen Auszuges bestand aus 0.8325 g Caffeïn. Für die Analyse wurde der Körper aus Wasser umkrystallisirt.

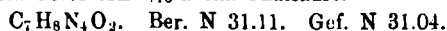
0.1136 g Subst.: 0.0095 g H_2O bei 110° ; 21.5 ccm $\frac{1}{10}$ -norm. Oxalsäure.



Gef. » 8.36, » 26.50.

Aus dem Theobrominsilber wurden 0.24 g Theobromin erhalten. Der aus Wasser umkrystallisirte Körper gab weder mit Kupfersulfat und Bisulfit, noch mit ammoniakalischer Silberlösung einen Niederschlag. Beim Verjagen des Ammoniaks schied sich aber eine krystallinische Silberverbindung aus.

0.0750 g Subst.: 16.63 ccm $\frac{1}{10}$ -norm. Oxalsäure.



Mit der Gesamtmenge des Harnes haben sich demnach 3.33 g Caffeïn und 0.96 g Theobromin ausgeschieden oder für 100 g verfüttertes Caffeïn berechnet 6.6 g Caffeïn und 1.9 g Theobromin. Rost¹⁾ hat bei seinen, mit kleinen Mengen Caffeïn am Hunde angestellten Versuchen 1.1—8.1 pCt. Caffeïn wiedergefunden.

B. Kupferfällung.

Die gesammelten Kupferniederschläge wurden durch Schwefelwasserstoff zersetzt, dann die Harnsäure in essigsaurer Lösung durch

¹⁾ Arch. f. exper. Path. und Pharmak. 36, 62.

Braunstein oxydirt, das gelöste Mangan durch Ammoniumcarbonat und Ammoniak beseitigt und schliesslich die Purinbasen nochmals durch Kupfersulfat plus Bisulfit abgeschieden. Die Lösung der aus dem Kupferniederschlag erhaltenen freien Basen wurde nach dem Einengen siedend heiss mit Baryt im Ueberschuss versetzt, kurze Zeit aufgekocht und nach dem Erkalten filtrirt. Aus dem Baryumsalze wurde dann, wie bei dem Vorversuche beschrieben, 3-Methylxanthin in einer Menge von 1.745 g erhalten.

0.1162 g Sbst.: 28.05 ccm $\frac{1}{10}$ -norm. Oxalsäure.

$C_8H_6N_4O_9$. Ber. N 33.73. Gef. N 33.80.

Das Filtrat von 3-Methylxanthin-Baryum wurde nach Beseitigung des Baryts durch Ammoniumcarbonat zur Trockne verdampft und der Rückstand in der 15-fachen Menge 10-procentiger Natronlauge gelöst. Nach 24-stündigem Stehen hatten sich die Natriumsalze des Paraxanthins und Theophyllins ausgeschieden. Auch die letztere Verbindung giebt bei Anwendung einer Natronlauge von genannter Concentration ein ziemlich schwerlösliches Natrium Salz, wie folgender Versuch zeigt: 0.1 g Theophyllin wurden in 5 ccm 10-procentiger Lauge gelöst und die Lösung 24 Stunden stehen gelassen. In einem gemessenen Theile (2.5 ccm) des Filtrates, welches mit Hülfe eines Asbestfilters vom Niederschlag getrennt war, wurde der Stickstoffgehalt nach Kjeldahl bestimmt. Da 1 ccm $\frac{1}{10}$ -norm. Oxalsäure verbraucht war, ist die Löslichkeit des Theophyllins (wasserfrei) in 10-procentiger Natronlauge 1 : 555.

Die Trennung des Paraxanthins vom Theophyllin geschah durch Umkrystallisiren ihrer Silbernitratdoppelsalze ans Salpetersäure vom specifischen Gewicht 1.1, wobei die schwerer lösliche Verbindung des Paraxanthins zuerst in feinen, langen Nadeln auskrystallisirte. Dieselbe wurde in Wasser vertheilt, die Mischung mit Ammoniak deutlich alkalisch gemacht, dann das Silber durch tropfenweisen Zusatz von Salzsäure ausgeschieden und das Filtrat mit Kupfersulfat und Natriumbisulfit behandelt. Es wurden 0.4 g einer Base erhalten, welche nach dem Umkrystallisiren aus Wasser in langen, glänzenden Nadeln erhalten wurde.

0.094 g Sbst.: 20.85 ccm $\frac{1}{10}$ -norm. Oxalsäure.

$C_7H_8N_4O_2$. Ber. N 31.11. Gef. N 31.06.

0.1 g der Substanz, in 10 ccm 3.3-procentiger Natronlauge gelöst, schieden beim Abkühlen sofort makroskopische, glänzende Blättchen des Natriumsalzes vom Paraxanthin aus. Nimmt man die Darstellung des Natriumsalzes unter dem Mikroskope vor, wie es G. Salomon¹⁾ angegeben hat, so kann man auch bei Anwendung ganz minimaler Mengen Substanz an den Formen der vor den Augen entstehenden

¹⁾ Virch. Arch. 125, 554.

Krystalle der Natriumsalze und der zurückgebildeten freien Basen mit Sicherheit erkennen, ob Heteroxanthin, Paraxanthin oder Theophyllin vorliegt.

Aus der Mutterlauge vom Paraxanthin-Silberniträt wurde das Theophyllin in der beim Paraxanthin beschriebenen Weise isolirt. Aus Wasser umkrystallisirt, erschien der Körper in langen glänzenden Säulen (2.26 g).

0.1498 g Sbst.: 0.0133 g H₂O bei 130°; 30.3 ccm $\frac{1}{10}$ -norm. Oxalsäure.

$C_7H_8N_4O_2 + H_2O$. Ber. H₂O 9.09, N 28.28

Gef. » 8.88, » 28.31.

Durch ihren Krystallwassergehalt ist die Substanz sofort als Theophyllin gekennzeichnet. Das Natriumsalz dieser Base ist schon makroskopisch von den entsprechenden Verbindungen des Heteroxanthins und Paraxanthins zu unterscheiden, da es als glanzloses, weisses Krystallmehl erscheint.

In der Mutterlauge von den 2.26 g Theophyllin befanden sich noch 0.57 g Substanz, welche gleichfalls als Theophyllin erkannt wurde, sodass die Menge desselben im Ganzen 2.83 g betrug.

Rechnet man die für 3-Methylxanthin, Paraxanthin und Theophyllin gefundenen Zahlen auf das Gesamt-Harnvolumen und auf 100 g verfüttertes Caffein um, so ergeben sich:

4.6 g 3-Methylxanthin; 1.05 g Paraxanthin; 7.4 g Theophyllin (wasserhaltig). Die Mengen der beiden letzten Körper sind, wie schon erwähnt, etwas zu niedrig.

432. L. Staudenmaier: Untersuchungen über den Graphit.

(Eingegangen am 2. October.)

1. Ueber Graphitsäure (aus Ceylongraphit). Zur Darstellung derselben wurde bisher der Graphit etwa 4-mal mit der gleichen Oxydationsmischung behandelt und nach jeder Oxydation das Product ausgewaschen, getrocknet und wieder zerrieben. Nach meinem kürzlich mitgetheilten Verfahren¹⁾ lässt sich ziemlich grossschuppiger Graphit ohne weitere Zerkleinerung in einer Operation in das grüne Product und dieses selbst wieder durch blosses Erwärmen mit Uebermangausäure in Graphitsäure überführen. Dabei stellt sich heraus, dass der Graphit bei diesen Uebergänge seine äussere Form in keiner Weise ändert. Man kann also in dieser Beziehung die durchsichtige Graphitsäure mit Vortheil zum Studium des Graphits selber benützen. Hr. Dr. Weinschenk in München hat die nach meinem Verfahren

¹⁾ Diese Berichte 31, 1481 und 32, 1394 ff.