

Ueber die Fällbarkeit der Harnsäure und der Basen der Harnsäuregruppe als Kupferoxydulverbindungen.

Von
Martin Krüger.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)
(Der Redaction zugegangen am 21. Juli 1893.)

In Band 25, S. 2454 der Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft hat E. Drechsel eine kurze Mittheilung «Ueber eine neue Reaction gewisser Xanthinkörper» veröffentlicht, nach der Xanthin, Guanin und Hypoxanthin, ebenso wie Harnsäure aus ammoniakalischer Lösung durch Kupferchlorür oder aus fix-alkalischer mit Fehling'scher Lösung versetzter Lösung auf Zusatz reducirender Reagentien in Form schwer löslicher Kupferoxydulverbindungen gefällt werden, welche sich den Silberverbindungen der betreffenden Körper in ihren Eigenschaften sehr ähnlich verhalten.

Schon seit längerer Zeit mit der Untersuchung des Adenins und Hypoxanthins beschäftigt, habe ich in Anbetracht der Wichtigkeit der genannten Reaction für die Gewinnung des Adenins nach der Veröffentlichung der erwähnten Mittheilung auch Adenin auf sein Verhalten zu den gleichen Reagentien geprüft und die Fällbarkeit desselben constatiren können. Von einer näheren Untersuchung der genannten Reaction musste Abstand genommen werden, da Drechsel weitere Mittheilungen von Seiten F. Balke's in Aussicht stellte.

Balke¹⁾ fand nun, dass ausser den genannten Basen der Harnsäuregruppe noch Heteroxanthin, Paraxanthin, Carnin

¹⁾ Journ. f. pract. Chem., Bd. 47, S. 537–567.

und Adenin gefällt werden, nicht aber Theobromin und Coffein. Als Reductionsmittel der Kupferoxydlösungen wandte er Hydroxylamin oder Dextrose an. Bezüglich des Adenins und Hypoxanthins hat er nur kurz die Fällbarkeit derselben erwähnt und die Beschaffenheit der Niederschläge beschrieben.

Da zur Darstellung des Adenins aus dem dafür geeignetsten Material, dem Theeextract, bisher immer nur ammoniakalische Silberlösung angewendet worden war, so musste, falls die Fällbarkeit des Adenins als Kupferoxydulverbindung sich als eine quantitative erwies, die Gewinnung des Adenins und damit des Hypoxanthins sich bedeutend billiger gestalten. Es wurden zunächst einige Versuche gemacht, um die Schärfe und Brauchbarkeit der genannten Reaction bei Adenin und Hypoxanthin zu zeigen.

Als Fällungsmittel wandte ich Kupfersulfat plus Natriumbisulfit an; dies Reagens gewährt den Vortheil, dass die Fällung der Basen sowohl in neutraler, als saurer und alkalischer Lösung vorgenommen werden kann.

Eine wässrige Lösung von Adenin oder seines schwefelsauren Salzes wird durch Kupfersulfat und Natriumbisulfit sofort als gelatinöser, farbloser Niederschlag gefällt; derselbe färbt sich an der Luft allmähig gelbgrün bis bräunlichgrün, beim Trocknen wird er dunkelgrün. Hypoxanthin fällt unter gleichen Umständen mehr flockig weiss.

Die Niederschläge lösen sich leicht in Mineralsäuren, am schnellsten in Salpetersäure, langsam in heisser Essigsäure; sie werden durch Natronlauge nicht zersetzt, lösen sich auf Zusatz von Ammoniak in Berührung mit Luft leicht auf. Durch Alkalisulfide werden sie leicht zersetzt.

Die Filtrate von den Kupferoxydulniederschlägen werden nicht mehr durch ammoniakalische Silberlösung gefällt.

Um die Schwerlöslichkeit dieser Kupferoxydulverbindungen zu zeigen, wurden folgende quantitative Versuche ausgeführt:

Je 0,1—0,2 gr. Adenin wurden in 200 ccm. Wasser auf Zusatz weniger Tropfen Schwefelsäure gelöst, die Lösung mit der 8fachen Menge des Adenins an Kupfersulfat — so

dass auf 1 Molekül Adenin 4 Mol. Kupfersulfat kamen — und mit 5 resp. 10 ccm. der käuflichen Natriumbisulfitlösung versetzt. Die entstandenen Niederschläge wurden nach wechselnden Zeiten abfiltrirt und im Filtrate das noch enthaltene Adenin nach der Kjeldahl'schen Methode bestimmt.

Wurde die Fällung des Adenins in der Kälte vorgenommen und der entstandene Niederschlag sofort abfiltrirt, so enthielt das Filtrat noch grössere Mengen Adenin, in einem Falle sogar 15,6 mgr. Nach 1stünd. Stehen war die Menge des gelöst gebliebenen Adenins bedeutend geringer; vollständig war die Fällung stets, wenn zwischen Fällung und Filtration ein Zeitraum von 12 Stunden verstrichen war.

Die Filtrate der sofort oder nach 1stünd. Stehen abfiltrirten Niederschläge trübten sich bei längerem Stehen, sofort beim Erhitzen. Dies schien darauf zu deuten, dass die Fällung des Adenins in der Wärme schneller und vollständiger vor sich geht, was durch den Versuch vollkommen bestätigt wurde.

Denn als 0,1070 gr. Adenin, wie oben, in 200 ccm. Wasser plus wenig Schwefelsäure gelöst, mit 12 ccm. 6,4proc. Kupfersulfatlösung und 3 ccm. Natriumbisulfitlösung in der Wärme gefällt wurden, der entstandene Niederschlag sofort abfiltrirt und 2 Mal mit je 250 ccm. heissen Wassers gewaschen wurde, blieben in den 3 Filtraten nur Spuren von Adenin zurück.

Dasselbe war der Fall, als 0,2052 gr. Adenin mit 25 ccm. Kupfersulfatlösung und 10 ccm. Natriumbisulfitlösung gefällt wurden. Im letzteren Falle betrug der auf gewogenem Filter gesammelte und bei 100° bis zum constanten Gewicht getrocknete Niederschlag 0,5044 gr. Er enthielt 20,72% N, 37,99% Cu, 12,93% SO₄. Da der Niederschlag 2 Mal mit je 250 ccm. heissen Wassers ausgewaschen war, so ist nicht anzunehmen, dass die gefundene Schwefelsäure als Verunreinigung anzusehen ist; viel wahrscheinlicher scheint die Annahme zu sein, dass sie in die Kupferoxydulverbindung des Adenins eingetreten ist.

Das Verhältniss von Adenin zu Kupfer in dem analysirten Niederschlage ist genau gleich 1:2. Aus dem N-Gehalte des-

selben berechnet sich die Menge des wiedergefundenen Adenins zu 0,2015 gr. (an Stelle der angewandten Menge 0,2052 gr.); Verlust ist demnach 3,7 mgr. auf 750 cbcm. Wasser. Die Löslichkeit der Kupferoxydulverbindung des Adenins ergibt sich hieraus wie 1 in 200,000 Theile heissen Wassers.

Die Löslichkeit der Kupferoxydulverbindung von Hypoxanthin ist ebenso gering, wie die von Adenin. Aus 0,2042 gr. Hypoxanthin, welche wie beim Adenin beschrieben gefällt wurden, wurden 0,4756 gr. Kupferoxydulverbindung erhalten. Dieselbe enthielt 17,44% N, 42,23% Cu und gleichfalls grössere Mengen von Schwefelsäure. Es sind demnach wiedergefunden 0,2015 anstatt 0,2042 gr. Hypoxanthin.

Nach diesen Ergebnissen kann die Ausfällung des Adenins und Hypoxanthins durch Kupfersulfat und Natriumbisulfit wohl als eine vollständige bezeichnet werden, geeignet, nicht nur zur quantitativen Bestimmung dieser Xanthinbasen, sondern auch vor Allem zur Gewinnung derselben.

Es wird weiteren Versuchen vorbehalten bleiben zu entscheiden, wie gross die Ausbeute an Adenin aus Theeextract nach diesem Verfahren im Vergleich mit dem früher von mir beschriebenen Silberverfahren ist, und ob ersteres, abgesehen von dem Preise der anzuwendenden Reagentien, noch andere Vortheile gewährt.

Als gleich vorzügliches Fällungsmittel hat sich das genannte Reagens auch bei Harnsäure nach einigen vorläufigen Versuchen, welche demnächst fortgesetzt werden sollen, erwiesen. Es soll versucht werden, auf dieses Verhalten der Harnsäure eine neue quantitative Bestimmung derselben im Harne zu gründen.

Eine Lösung von freier Harnsäure wird in der Kälte durch Kupfersulfat und Natriumbisulfit allmählig, in der Wärme sofort gefällt.

Ausser den genannten Verbindungen, Adenin, Hypoxanthin und Harnsäure, werden weiter gefällt:

Guanin wird sowohl in der Kälte, wie in der Wärme sofort gefällt.

Methyladenin¹⁾ verhält sich ebenso,

Theobromin und Caffein werden nicht gefällt.

Dimethylhypoxanthin wird in der Wärme nicht gefällt, in der Kälte entsteht nur in conc. Lösungen allmählig ein gelber krystallinischer Niederschlag, aus feinen Nadeln bestehend, der nur als eine Doppelverbindung, nicht als Substitutionsproduct aufgefasst werden kann.

Kreatin und Kreatinin werden nicht gefällt.

Die Löslichkeit der Kupferoxydulverbindungen des Methyladenins, welches nur noch ein durch Alkyle etc. vertretbares Wasserstoffatom enthält, ist, wie vorauszusehen war, erheblich grösser, als die des Adenins selbst. Als 0,145 gr. Methyladenin in derselben Weise, wie bei Adenin angegeben, gefällt wurden, gingen 26,6 mgr. in das Filtrat über.

Kupfersulfat und Natriumhyposulfit.

Von wesentlichem Einfluss auf die Abscheidung der Kupferoxydulverbindungen ist die Art des Reductionsmittels. Natriumhyposulfit wirkt anders wie Natriumbisulfit.

Adenin (freie Base, wie Salz) gibt selbst noch in einer Verdünnung von 1:50,000 eine deutliche Trübung, die nach längerem Stehen sich flockig zu Boden setzt.

Hypoxanthin dagegen wird in der Kälte selbst in 0,5 proc. Lösung nicht gefällt, auch nach längerem Stehen entsteht keine Trübung. Beim Erwärmen scheidet sich hingegen die Kupferoxydulverbindung sofort ab. Kupfersulfat plus Natriumhyposulfit gestattet daher eine Trennung von Adenin und Hypoxanthin.

Methyladenin und Guanin werden wie Adenin auch in der Kälte sofort gefällt. Es wäre interessant, zu erfahren, ob in Bezug auf das genannte Fällungsmittel zwischen Guanin und Xanthin dieselbe Verschiedenheit stattfindet, wie zwischen Adenin und Hypoxanthin. Die Bedeutung des Reagens für den Nachweis der Xanthinbasen würde alsdann gleichwerthig der Pikrinsäure sein, welche bekanntlich mit Guanin und

¹⁾ Methyladenin und Dimethylhypoxanthin werden demnächst in dieser Zeitschrift besprochen werden.

Adenin sehr schwer lösliche, mit Xanthin und Hypoxanthin leicht lösliche oder verhältnissmässig leicht lösliche Verbindungen gibt. Leider stand mir kein Xanthin zur Verfügung, um die Reaction vornehmen zu können.

Eine Lösung von Harnsäure gibt mit Kupfersulfat und Natriumhyposulfit weder in der Kälte, noch in der Wärme einen Niederschlag von harnsaurem Kupferoxydul. Eine Lösung von Harnsäure in Natronlauge mit Fehling'scher Lösung versetzt, trübt sich allmählig in der Kälte und setzt einen weissen Niederschlag, etwas schneller entsteht der Niederschlag auf Zusatz von Natriumhyposulfit, sofort dagegen auf Zusatz von Natriumbisulfit.

Theobromin, Dimethylhypoxanthin, Kreatin und Kreatinin werden nicht gefällt durch Kupfersulfat und Natriumhyposulfit.

Die Kupferoxydulverbindungen der Harnsäure und der Xanthinbasen lösen sich im Ueberschuss von Natriumhyposulfit leicht auf. Dasselbe gilt für die durch Ammoniak und Silbernitrat erhaltenen Silberverbindungen der Harnsäure wie der Xanthinbasen; letztere Beobachtung ist schon öfter von Herrn Prof. Kossel gemacht worden.

Ueber die Fällbarkeit der untersuchten Verbindungen durch Kupfersulfat und Natriumdisulfit, resp. Natriumhyposulfit in neutralen oder sauren Lösungen soll die folgende Tabelle eine übersichtliche Zusammenstellung geben:

Verbindungen.	$\text{CuSO}_4 + \text{NaHSO}_3$.	$\text{CuSO}_4 + \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.
Harnsäure	gefällt	—
Adenin	gefällt	gefällt.
Methyladenin	gefällt	gefällt.
Hypoxanthin	gefällt	gefällt, nur in der Wärme.
Guanin	gefällt	gefällt.
Dimethylhypoxanthin .	} nur aus starken Lös. in der Kälte, kryst.	—
Theobromin		—
Caffein	—	—
Kreatin	—	—
Kreatinin	—	—

Um die Resultate der vorliegenden Untersuchung zusammenzufassen, so hat sich ergeben, dass mit Hilfe von Kupfersulfat und Natriumbisulfit alle Xanthinkörper, welche noch eine substituierbare NH-Gruppe enthalten, namentlich aus heissen Lösungen als Kupferoxydulverbindungen gefällt werden. Eine bemerkenswerthe Ausnahme macht allein das Theobromin. In soweit die Fällbarkeit durch das genannte Reagens quantitativ verfolgt wurde, hat es sich als gleichwerthig mit der ammoniakalischen Silberlösung erwiesen. Bei Anwendung von Natriumhyposulfit als Reductionsmittel ist ausserdem eine Unterscheidung und Trennung von Adenin und Hypoxanthin und wahrscheinlich auch von Guanin und Xanthin möglich.
