

Das Verhalten von Harnsäure, Adenin und Hypoxanthin zu Kupfersulfat und Natriumbisulfit, resp. Natriumthiosulfat.

Von

Martin Krüger.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)
(Der Redaction zugegangen am 22. Juni 1894.)

In einer früheren kurzen Mittheilung¹⁾ ist bereits erwähnt worden, dass Harnsäurelösungen durch Kupfersulfat und Natriumbisulfit in derselben Weise gefällt werden, wie Lösungen von Adenin und Hypoxanthin. Es scheidet sich harnsaures Kupferoxydul aus; der zuerst entstehende flockige und rein weisse Niederschlag färbt sich namentlich in heissen Lösungen schnell braun. Auch hier wurde wie schon früher die Beobachtung gemacht, dass die Wirksamkeit des Kupfersulfats und Natriumbisulfits besonders gross ist, wenn das Reagens zu den heissen Lösungen von Harnsäure gesetzt wird.

Da die Existenz von Kupferoxydul-, wie die von Silberverbindungen an das Vorhandensein von substituierbaren Imidgruppen in den Moleculen der Harnsäure, der Xanthin- und Sarkinbasen gebunden ist und die Schwerlöslichkeit der Kupferoxydulverbindungen mit der Anzahl der substituirtten Imidgruppen zunimmt, so konnte von vornherein angenommen werden, dass die Harnsäure durch Kupfersulfat und Natriumbisulfit noch vollständiger gefällt werden würde als Adenin und Hypoxanthin, was durch den Versuch vollkommen bestätigt wurde.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 18, S. 352.

Bei den nachfolgenden Bestimmungen kam in allen Fällen eine 13proc. Kupfersulfatlösung und käufliche, conc. Lösung von Natriumbisulfit, welche ihrem Natriumgehalte nach 50 gr. Natriumbisulfit auf 100 ccm. enthält, zur Anwendung. Zur Fällung von je 10 mgr. Harnsäure erwies sich je 1 ccm. Kupfersulfat- wie Natriumbisulfitlösung als ausreichend.

0,1—0,2 gr. Harnsäure wurden in 250 ccm. Wasser unter Zusatz von etwas Soda, oder besser Natriumphosphat gelöst, die Lösung nach Neutralisation mit Salzsäure mit der angegebenen Menge Kupfersulfat und Natriumbisulfit in der Siedehitze versetzt. Der sofort entstehende Niederschlag von harnsaurem Kupferoxydul wurde auf einem Faltenfilter gesammelt und mit 250 ccm. heissen Wassers ausgewaschen. Im Niederschlage plus Filter wurde endlich nach der Kjeldahl'schen Methode der Stickstoffgehalt bestimmt.

Im Mittel aus 25 Analysen blieben 1,4 mgr. Harnsäure gelöst, wie einer Löslichkeit von $(0,0014 : 500 =) 1 : 360,000$ entspricht.

Bei diesen Bestimmungen war der Niederschlag im harnsauren Kupferoxydul sofort nach der Fällung filtrirt worden. Wurde dagegen der Niederschlag mit der Flüssigkeit bis zum völligen Erkalten desselben stehen gelassen und dann erst die Filtration vorgenommen, so blieben im Durchschnitt aus 7 Analysen, deren Resultate in der folgenden Tabelle angegeben sind, nur 0,9 mgr. Harnsäure in Lösung, was einer Löslichkeit von $1 : 560,000$ entspricht.

Angewandte Harnsäure.	Gefundene Harnsäure.	Differenz in mgr.
0,1229 gr.	0,1217 gr.	1,3 mgr.
0,1508 »	0,1499 »	0,9 »
0,1333 »	0,1325 »	0,8 »
0,1124 »	0,1115 »	0,9 »
0,1332 »	0,1319 »	1,3 »
0,1141 »	0,1135 »	0,7 »
0,1324 »	0,1319 »	0,5 »
		Mittel = 0,9 mgr.

In einigen Fällen wurde versucht, kaltes Wasser oder Natriumsulfit, resp. Natriumbisulfit versetztes Wasser zum Auswaschen der Niederschläge anzuwenden, ohne jedoch eine Verringerung des Verlustes an Harnsäure zu erzielen.

Bessere Resultate in dieser Hinsicht lieferten die Versuche, bei welchen gleichzeitig neben dem harnsauren Kupferoxydul ein zweiter anorganischer, in Wasser unlöslicher Niederschlag erzeugt wurde. Setzt man unmittelbar nach der Fällung der Harnsäure zu der Lösung noch 5 ccm. Baryumchlorid hinzu, so reißt der schwere Niederschlag von Baryumsulfat die Harnsäureverbindung schnell zu Boden, bewirkt ein schnelles und klares Filtriren der Flüssigkeit und macht die Fällung der Harnsäure noch vollständiger, als bisher erreicht war. Lässt man ausserdem die Flüssigkeit nach der Fällung, wie oben angegeben, noch 2 Stunden bis zum völligen Erkalten stehen, so kann die Bestimmung der Harnsäure mit Kupfersulfat und Natriumbisulfid als quantitativ angesehen werden.

In der angegebenen Weise wurden sowohl mit reinen Harnsäurelösungen als mit Harn eine Reihe von Analysen ausgeführt und die beim Harn erhaltenen Resultate mit den nach der Salkowski-Ludwig'schen Methode gewonnenen verglichen.

Da zu erwarten war, dass aus dem Harn neben Harnsäure noch Xanthinbasen mit gefällt würden, so konnte nicht der ganze N-Gehalt des Kupfer-Niederschlages auf Harnsäure umgerechnet werden, sondern es musste der Niederschlag in derselben Weise weiter verarbeitet werden, wie der durch ammoniakalische Silberlösung erhaltene. Er wurde daher durch Natriumsulfidlösung zersetzt, das Filtrat mit Salzsäure angesäuert und eingedampft. Die nach mehreren Stunden ausgeschiedene Harnsäure wurde auf einem kleinen Filter gesammelt, ausgewaschen, und der N-Gehalt derselben nach der Kjeldahl'schen Methode bestimmt.

Auf diese Weise wurde erhalten in:

	Nach Salkowski-Ludwig.	Nach meinem Verfahren.	Differenz.
100 ccm. Harn.	0,0508 gr. Harnsäure.	0,0504 gr. Harnsäure.	0,4 mgr.
100 » »	0,0442 » »	0,0426 » »	0,6 »
100 » »	0,0370 » »	0,0369 » »	0,1 »

Die Differenzen in den nach beiden Methoden erhaltenen Zahlen betragen weniger als 1 mgr. Die Versuche zeigen

dennach, dass die Fällung der Harnsäure mit Kupfersulfat und Natriumbisulfit auch beim Harne sehr gute Resultate liefert.

Kupfersulfat und Natriumthiosulfat.

Bereits in der früheren Mittheilung (l. c.) ist auf die verschiedene Wirkungsweise der dem Kupfersulfat hinzugesetzten Reductionsmittel aufmerksam gemacht worden. Die dort erwähnten Resultate haben sich nach weiteren Experimenten als vollkommen zutreffend erwiesen.

Die Schärfe des Reagens, Kupfersulfat und Natriumthiosulfat, auf Adenin ist noch bedeutender, als früher angegeben. Adeninslösungen werden noch in einer Verdünnung von 1:65,000 nach wenigen Sekunden gefällt; Hypoxanthinlösungen dagegen zeigen selbst in 0,5 proc. und höherer Concentration und nach $\frac{1}{2}$ stündiger Einwirkung des Gemisches in der Kälte keinen Niederschlag einer Kupferoxydulverbindung, in der Wärme entsteht ein solcher aber sogleich. Aus einer neutralen Lösung von Harnsäure endlich, welche mit Kupfersulfat und soviel Salzsäure versetzt ist, bis der durch Kupfersulfat entstandene Niederschlag gelöst ist, scheidet auf Zusatz von Thiosulfat kein harnsaures Kupferoxydul aus.

Dieses verschiedene Verhalten von Harnsäure, Adenin Hypoxanthin gibt Mittel an die Hand: 1. Harnsäure von Adenin und Hypoxanthin und 2. Adenin von Hypoxanthin zu trennen.

Nach den erwähnten Resultaten lässt sich erwarten, dass aus einer heissen Lösung, welche gleichzeitig Harnsäure, Adenin und Hypoxanthin enthält, durch Kupfersulfat und Thiosulfat nur Adenin und Hypoxanthin gefällt werden, während Harnsäure in Lösung bleibt; aus einer Lösung von Adenin und Hypoxanthin müsste bei Anwendung desselben Reagens in der Kälte nur Adenin gefällt werden.

Eine fast quantitative Trennung des Adenins vom Hypoxanthin kann zwar durch Anwendung von Pikrinsäure erzielt werden, welche mit Adenin ein sehr schwer lösliches Pikrat bildet. Dieses Verfahren wird jedoch, wo es sich um Trennung

grösserer Mengen Adenins von Hypoxanthin handelt, in Folge der Schwierigkeit, die Base aus dem Pikrate zu isoliren, unbequem. Die Zersetzung des Adenin-Kupferoxyduls kann dagegen in sehr einfacher Weise durch Sulfide bewerkstelligt werden.

Eine Trennung der Harnsäure von Adenin und Hypoxanthin in der gedachten Weise würde nur von theoretischer Bedeutung, nicht von praktischem Werthe sein, da in den verd. Säuren, in welchen Harnsäure fast unlöslich, Adenin und Hypoxanthin leicht löslich sind, schon hinreichend genaue Mittel zur Sonderung der Körper von einander zur Verfügung stehen.

Wohl aber müsste die Methode auch praktische Bedeutung gewinnen für eine Trennung der Harnsäure von Xanthin und Guanin, welche Basen in ihren Löslichkeitsverhältnissen mit der Harnsäure nahe übereinstimmen und nach der früheren Mittheilung (l. c.) zu Kupfersulfat und Natriumbisulfat, resp. Natriumthiosulfat sich ebenso verhalten, wie Hypoxanthin und Adenin.

Die zur Trennung der Harnsäure, des Adenins und Hypoxanthins unternommenen Versuche haben noch nicht zu einem befriedigenden Abschluss geführt; dennoch mögen sie als Grundlage für weitere Versuche hier erwähnt werden.

Es gelang zunächst nicht, Adenin und Hypoxanthin in der Wärme vollständig durch Kupfersulfat und Natriumthiosulfat zu fällen. Der Grund ist nicht etwa darin zu suchen, dass ein Ueberschuss von Thiosulfat, welches ja die Kupferoxydulverbindungen löst, angewendet wurde; denn Thiosulfat wird in der Wärme leicht durch Kupfersulfat zersetzt. Die Ursache der nicht vollständigen Fällung liegt vielmehr in der bei der Operation freiwerdenden Säure, welche lösend auf die Kupferoxydulverbindungen wirkt. Das Freiwerden von Säure bei der Fällung ist leicht durch das Verhalten der Lösungen gegen Methylorange zu constatiren. Stumpft man die Säure durch Digeriren der Flüssigkeiten mit Baryumcarbonat ab, so ist die Fällung vollständiger; am vollständigsten jedoch, wenn man nach dem Fällen der Kupferoxydulverbindungen Natriumacetat hinzugibt.

Weder die Digestion mit Baryumcarbonat noch der Zusatz des Natriumacetats ist jedoch bei der Trennung der Harnsäure von Adenin und Hypoxanthin anwendbar, da im ersteren Falle schwerlösliches harnsaures Baryum entstehen würde, im letzteren Falle das aus Kupfersulfat und Natriumacetat resultirende Kupferacetat einen grossen Theil der Harnsäure fällen würde.

Bei der Einwirkung von Kupfersulfat und Thiosulfat in der Kälte, wo natürlich ein Ueberschuss an letzterem zu vermeiden ist, auf ein Gemisch von Adenin und Hypoxanthin fällt mit dem Adenin ein Theil des Hypoxanthins aus; lässt man hingegen das Reagens auf die Salze der Basen einwirken, so ist die Fällung des Adenins nicht vollständig.