

# Die Constitution des Heteroxanthins und seine physiologischen Wirkungen.

Von

**M. Krüger und G. Salomon.**

(Aus den chemischen Laboratorien des physiologischen und des pathologischen Instituts zu Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 9. Juli 1895.)

Das Material zu der vorliegenden Untersuchung stammt aus der Verarbeitung von 10,000 l menschlichem Harn, die im Sommer 1892 auf Wunsch des Herrn Professor Mendel ausgeführt wurde, um grössere Mengen von Paraxanthin für klinische Zwecke zu gewinnen. Den Directoren der Chemischen Fabrik auf Actien (vorm. E. Schering), Herren Dr. Holtz und Finzelberg, sind wir für die gütige Erlaubniss zur Benutzung der Fabrikräume, dem Chemiker Herrn Dr. Walzberg für die überaus sorgfältige Leitung der langwierigen Darstellung zu aufrichtigem Dank verpflichtet.

Die Sammlung des Urins geschah zu gleicher Zeit in den drei grossen städtischen Krankenhäusern am Friedrichshain, in Moabit und am Urban. In allen dazu bestimmten Pavillons und Baracken waren Ballons von 60 l Gehalt, zusammen 30 an der Zahl, aufgestellt, die zuvor mit  $\frac{1}{4}$  l starker Ammoniakflüssigkeit beschickt waren. Täglich wurden die Ballons nach der Fabrik spedirt und gleichzeitig durch neue ersetzt; weitere 30 Ballons lagerten stets auf dem Speditionshofe. Die Gesamtausbeute, täglich etwa 600 l, wurde in 10 Ballons zusammengewaschen, von den Phosphatniederschlägen abgehebert, in grossen Thoncyllindern mit Silber gefällt, der sorgfältig gewaschene Silberschlamm durch ein unten befind-

liches Ausflussrohr abgelassen und weiter nach bekannter Methode behandelt<sup>1)</sup>). Zur Entfernung der grossen Harnsäuremassen aus dem entsilberten Rohproduct war eine Extraction mit dreiprocentiger Schwefelsäure nöthig. — Auf diese Weise gelang es, in etwas über drei Wochen die Arbeit bis zur Trennung der Xanthin- und Hypoxanthinfraktion zu fördern. Nur die erstere ist bisher genauer untersucht worden. Sie enthielt: Xanthin 13,0 gr., Paraxanthin 12,5 gr., Heteroxanthin leider nur 7,5 gr. Bei der Beurtheilung dieser Zahlen kommen natürlich Verluste verschiedener Art, unter Anderem auch durch die Löslichkeit der Silberniederschläge in Ammoniak, mit in Betracht.

Die ansehnlichen Kosten unseres allerdings sehr expediten Verfahrens würden sich verringern lassen, wenn es möglich wäre, die Urinsammlung in den Fabriken selbst vorzunehmen. Dem würden aber stets gerechtfertigte hygienische Bedenken der Directionen im Wege stehen. Ueberhaupt bedarf man zur Aufsammlung grösserer Harnmengen eines an ähnliche Hantirungen gewöhnten Personals, wie man es eben nur in Krankenhäusern findet. Eine erhebliche Ersparniss wird sich dagegen künftig durch die Fällung des Harns und der rohen Xanthinbasen mit Kupfersulfat-Natriumbisulfit, eine Vereinfachung des Verfahrens durch die Zerlegung der Silberniederschläge mit Salzsäure (anstatt mit Schwefelwasserstoff) erzielen lassen.

### I. Die Constitution des Heteroxanthins.

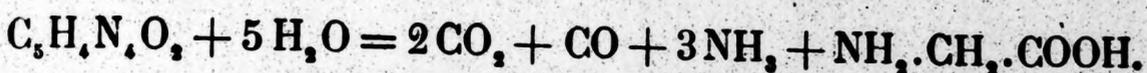
Das Heteroxanthin, welches seiner empirischen Formel nach ein Methylxanthin sein kann, wird wohl allgemein für ein Monomethylderivat des Xanthins gehalten, obwohl bisher diese Vermuthung durch experimentelle Beweise nicht gestützt worden ist.

Wenn trotz der geringen, uns zur Verfügung stehenden Materialmenge, von der ausserdem nur ein Theil für chemische

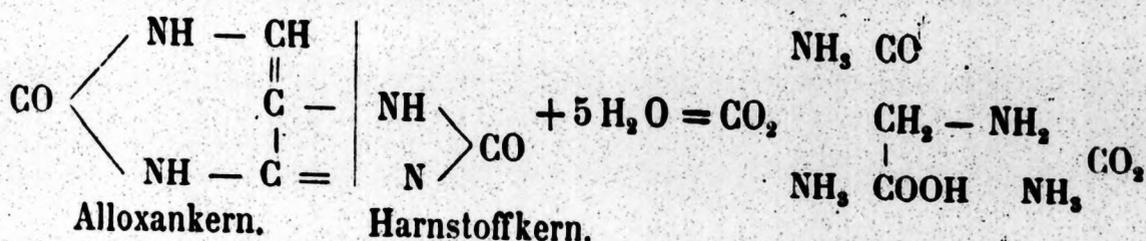
<sup>1)</sup> Vgl. Zeitschr. f. klin. Med., Bd. VII, Supplementheft, S. 63—80 (Georg Salomon: Ueber das Paraxanthin etc.).

Zwecke geopfert werden sollte, der Versuch, die Constitution des Heteroxanthins zu eruiren, unternommen wurde, so geschah es aus dem Grunde, weil wir glaubten, in heisser, conc. Salzsäure ein Reagens zur Verfügung zu haben, welches auch bei kleiner Substanzmenge sichere Aufschlüsse über die Beschaffenheit des Heteroxanthin-Moleküls geben müsste.

Unter dem Einflusse heisser, conc. Salzsäure von 180° bis 200° zerfällt Xanthin glatt in Kohlensäure, Kohlenoxyd, Ammoniak und Glycocoll. Die Spaltung verläuft nach folgender Gleichung:



Um die Abstammung der einzelnen Spaltungsproducte von Atomgruppen des Xanthinmoleküles deutlicher zu machen, diene folgendes Schema:

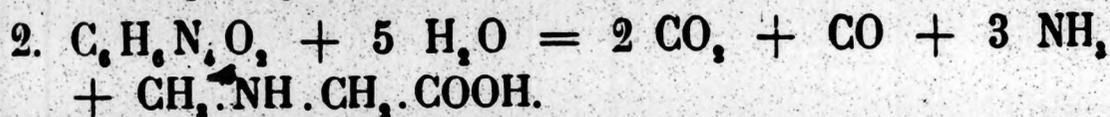
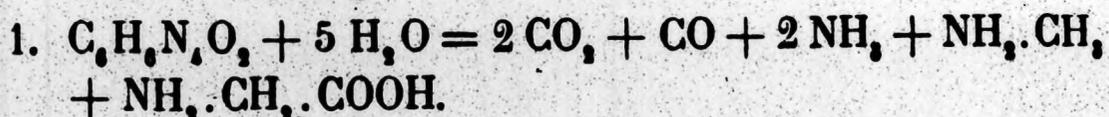


Unter der Einwirkung der conc. Salzsäure werden also 3 von den 4 im Xanthinmolekül befindlichen N-Atomen als Ammoniak abgespalten, und zwar beide N-Atome des Alloxankerns und das eine im Harnstoffkern befindliche N-Atom — Alloxan- und Harnstoffkern sind in der obigen Xanthinformel durch einen senkrechten Strich getrennt —, während das 2. N-Atom des letzteren in Verbindung mit 2 C-Atomen als Glycocoll unter den Spaltungsproducten wiedergefunden wird.

Ist nun das Heteroxanthin ein Methylderivat des Xanthins, d. h. durch Substitution eines Wasserstoffatoms durch die Methylgruppe aus dem Xanthin entstanden zu denken, so kann entweder die Methenyl-(CH)-Gruppe des Xanthins oder eine der 3 Imid-(NH)-Gruppen desselben in der genannten Weise verändert sein. Nehmen wir zunächst letzteres als das Wahrscheinlichere an, so werden aus dem Xanthin verschiedene Methylxanthine sich ableiten lassen, je nachdem die Methylgruppe in eine der beiden Imidgruppen des Alloxankerns oder in die des Harnstoffkerns eingefügt ist.

Die Entscheidung darüber, ob die Methylgruppe sich im Alloxan- oder Harnstoffkern befindet, kann nun in einfacher Weise durch die Spaltung des Methylxanthins mit conc. Salzsäure herbeigeführt werden. Es muss vorbemerkt werden, dass eine am Stickstoff haftende Methylgruppe auch nach der Behandlung mit conc. Salzsäure mit dem Stickstoff verbunden bleibt. Ist demnach die Methylgruppe in den Alloxankern eingetreten, so wird nach der Spaltung durch Salzsäure da, wo beim Xanthin ein Ammoniak-Molekül sich fand, jetzt ein Methylamin auftreten; befindet sich hingegen die Methylgruppe in der Imidgruppe des Harnstoffkerns, so wird an Stelle des Glycocolls Methylglycocoll oder Sarkosin entstehen müssen.

Ein im Alloxankern methylieres Xanthin wird also nach der folgenden 1. Gleichung, ein im Harnstoffkern methylieres nach der 2. Gleichung zersetzt werden:



Im 1. Falle muss demnach unter den Spaltungsproducten Methylamin nachweisbar sein; im 2. Falle darf es nicht vorhanden sein, aber an Stelle von Glycocoll muss sich Sarkosin finden, während im Uebrigen die Spaltungsproducte dieselben wie beim Xanthin sind.

#### *A. Spaltung des Heteroxanthins durch conc. Salzsäure.*

Das für die Versuche angewandte Heteroxanthin war in Form einer Natrium-Verbindung aus dem Harne dargestellt worden; letztere stellte ein gleichförmiges Präparat, aus wohl ausgebildeten makroskopischen Krystallen von gelblicher Farbe bestehend, dar. Zur Gewinnung des freien Heteroxanthins wurde die Natrium-Verbindung in heissem Wasser gelöst und die wässrige Lösung mit verd. Salzsäure bis zur sauren Reaction versetzt; nach 24stündigem Stehen wurde abfiltrirt und der Niederschlag zunächst mit kaltem Wasser bis zum Verschwinden der Chlorreaction, dann mit Alkohol und Aether gewaschen.

In dem bei 100° getrockneten Präparate wurde eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl ausgeführt.

0,1330 gr. verbrauchten 32,0 cbcm.  $\frac{1}{10}$  N.-Oxalsäure zur Neutralisation des überdestillirten Ammoniaks.

$C_8H_6N_4O_2$  verlangt:  
33,73 % N.

Gefunden:  
33,68 % N.

Die Spaltung des Heteroxanthins durch conc. Salzsäure geschah in derselben Weise, wie es schon vor einigen Jahren von dem Einen von uns beim Adenin<sup>1)</sup> angegeben war, d. h. es wurden bei einem Versuche 0,2090 gr. Heteroxanthin, beim 2. 0,2111 gr. im geschlossenen Rohr mit 10 cbcm. conc. Salzsäure 12 Stunden lang auf 200° C. erwärmt.

Um eine glatte Spaltung der Alloxurkörper durch conc. Salzsäure oder durch die gleichartig wirkende Schwefelsäure (2 Volumina — 1 Vol. conc. Schwefelsäure) (s. unten) zu erzielen, empfiehlt es sich, die Temperatur 200° nicht zu überschreiten, besser sogar noch bis auf 180° herabzugehen, da über 200° schon eine merkliche Abspaltung von Ammoniak resp. Methylamin aus dem Glycocoll und Sarkosin beginnt.

Die beim Oeffnen der Röhren entweichenden Gase wurden über Quecksilber aufgefangen und zur Absorption der Kohlensäure und des Kohlenoxydes mit Aetzkali, dann mit einer salzsauren Lösung von Kupferchlorür behandelt. Das Volumenverhältniss der Kohlensäure zum Kohlenoxyd war 12,9 : 7,4. Ist das Heteroxanthin ein Xanthinderivat und kommt ihm eine der angenommenen Formeln zu, so müssten in jedem Falle aus einem Molekül des Körpers 2 Moleküle Kohlensäure und 1 Molekül Kohlenoxyd abgespalten werden, das Volumenverhältniss beider Gase müsste also sein, wie 14,8 : 7,4. Wenn die thatsächlich gefundene Menge der Kohlensäure hinter der verlangten zurücksteht, so erklärt sich dies aus dem für Kohlensäure bedeutend grösseren Absorptionsvermögen der Salzsäure, infolge dessen das über der salzsauren Lösung befindliche

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 16, S. 160—172 und Bd. 18, S. 423—472 (M. Krüger: Zur Kenntniss des Adenins. Derselbe: Zur Kenntniss des Adenins und Hypoxanthins).

Gasgemisch ein Minus an Kohlensäure zeigen muss. Jedenfalls beweist der Versuch, dass auf ein Molekül Kohlenoxyd mehr wie ein Molekül Kohlensäure abgespalten wird. Nimmt man den durch die folgenden Versuche erhärteten Befund hinzu, nach welchem gerade 3 C-Atome des Heteroxanthinmoleküls in dem Abdampfungsrückstand der salzsauren Lösung in Form aus saurer Lösung nicht flüchtiger Verbindungen zurückbleiben, so mussten die übrigen C-Atome als Gase abgespalten werden. Bei der glatten Spaltung durch Salzsäure, welche ohne Oxydationserscheinungen verläuft, ist ein Uebergang von Kohlenoxyd in Kohlensäure ausgeschlossen, also muss das Verhältniss vom Kohlensäure- zum Kohlenoxydvolumen ein gerades sein; d. h. es werden aus einem Molekül Heteroxanthin in der That zwei Moleküle Kohlensäure und ein Molekül Kohlenoxyd abgespalten.

#### Untersuchung der salzsauren Lösung.

Die weitere Untersuchung erstreckte sich auf die in der salzsauren Lösung enthaltenen basischen und nicht flüchtigen Spaltungsproducte des Heteroxanthins.

Die von beiden Versuchen herrührenden Lösungen wurden auf je 100 cbcm. aufgefüllt.

Um zunächst festzustellen, wieviel von den 4 N-Atomen des Heteroxanthins in Form flüchtiger Basen abgespalten werden, ob eine gerade Anzahl derselben abgespalten wird, d. h. ob die Spaltung eine glatte ist, wurden je 50 cbcm. der beiden Lösungen nach Zusatz von Natronlauge destillirt, und die übergehenden Basen in  $\frac{1}{10}$  N.-Oxalsäure aufgefangen.

Es wurden verbraucht zur Neutralisation der überdestillirten Basen bei 50 cbcm.:

der Lösung I entsprechend 0,1045 gr. Heteroxanthin 18,90 cbcm.  $\frac{1}{10}$  N.-Oxalsäure = 25,32% N.

der Lösung II entsprechend 0,10555 gr. Heteroxanthin 19,10 cbcm.  $\frac{1}{10}$  N.-Oxalsäure = 25,33% N.

Da Heteroxanthin 33,73% N enthält, so müssten bei Abspaltung von 3 Atomen N in Form flüchtiger Basen 25,30% N

im Destillate gefunden werden; thatsächlich sind 25,32% und 25,33% N gefunden.

Hieraus ergibt sich, dass in der That 3 von den 4 N-Atomen als Aminbasen abgespalten werden, genau wie beim Xanthin, und dass ausserdem die Zerlegung des Heteroxanthins glatt verläuft.

Diese Thatsachen, verbunden mit dem Nachweis von Kohlensäure und Kohlenoxyd, stimmen mit beiden der oben für Heteroxanthin angenommenen Formeln überein; sie zeigen mit grosser Wahrscheinlichkeit, dass Heteroxanthin ein Xanthinderivat ist, lassen aber noch nicht eine Entscheidung darüber zu, ob es ein im Alloxan- oder Harnstoffkern methylieres Xanthin ist.

Wäre ersteres der Fall, so müsste unter den erwähnten flüchtigen Basen Methylamin sich finden; im letzteren Falle dagegen nicht.

Es wurden daher, wie bei den früheren Versuchen, 50 ccm. der Lösung II mit Natronlauge destillirt; nur wurde das alkalische Destillat diesmal in verd. Salzsäure aufgefangen. Nach dem völligen Abdestilliren der Basen wurde das Destillat bis fast zur Trockne verdampft, darauf mit wenig Wasser verdünnt und in die heisse Lösung Platinchlorid im Ueberschuss hinzugegeben. Beim Erkalten schieden sich nur die octaëdrischen Krystalle des Platinsalmiaks ab; von den für das Platindoppelsalz des Methylamin-Chlorhydrates charakteristischen 6seitigen Blättchen war selbst nach dem Eindampfen der Mutterlauge vom ersten Niederschlage nichts zu sehen.

Hiernach sind die aus Heteroxanthin abgespaltenen flüchtigen Basen nur Ammoniak. Es fällt mithin die Formel 1 als Constitutionsformel für Heteroxanthin nicht mehr in Betracht, und um die Richtigkeit der Formel 2 zu beweisen, bleibt nur der Nachweis des Sarkosins übrig.

Dieser Nachweis wurde zunächst indirect in der Weise geführt, dass 45 ccm. der Lösung I zur Trockne verdunstet, der Rückstand bis zum constanten Gewicht bei etwa 80° getrocknet — eine Temperatur von 100° ist zu vermeiden, da selbst hier schon minimale Mengen von Salmiak verflüchtigt

werden — und gewogen wurde; schliesslich wurde der Rückstand schwach geglüht und die geringe Menge Asche, von den Einschlussröhren herstammend, vom ursprünglichen Gewichte abgezogen. Es wurden auf diese Weise aus 45 cbcm. der Lösung, entsprechend 0,09405 gr. Heteroxanthin, 0,1610 gr. Rückstand erhalten oder aus 1 Molekül Heteroxanthin = 166 284,2 Th. Rückstand. Zieht man von dieser Zahl 284,2 das Gewicht der im Rückstand befindlichen Moleküle Salmiak = 160,5 ab, so bleibt 123,7 übrig; eine Zahl, die fast mit dem Molekulargewicht des Sarkosin-Chlorhydrates 125,5 übereinstimmt.

#### Nachweis des Sarkosins.

Für diesen Zweck wurde eine grössere Menge des Heteroxanthins, und zwar 1,65 gr., in mehreren Röhren mit verd. Schwefelsäure (1 Vol. conc. Schwefelsäure: 2 Vol. Wasser), welche, wie oben erwähnt, die Alloxurbasen in gleicher Weise spaltet wie conc. Salzsäure, 12 Stunden lang bei 180—200° behandelt. Alsdann wurde die schwefelsaure Lösung stark verdünnt, und aus ihr bei einer Temperatur von etwa 80° C. die Schwefelsäure durch Digestion mit Baryumcarbonat, das vorher mit heissem Wasser vollständig ausgekocht war, ausgefällt. Das Filtrat wurde dann auf etwa 100 cbcm. eingedampft und längere Zeit in der Wärme mit frisch gefälltem Kupferhydroxyd behandelt.

Das nunmehr erhaltene Filtrat war tief lasurblau gefärbt; es schied, selbst nachdem es bis auf wenige Cubikcentimeter eingedampft war, in der Kälte keine Krystalle aus; ein Beweis, dass hier nicht die Kupferverbindung des Glycocolls vorliegen konnte, die aus wässrigen Lösungen sehr leicht in langen, bläulich gefärbten Prismen krystallisirt.

Die vorliegende Flüssigkeit hinterliess, nachdem sie durch Filtration von geringen Mengen ausgeschiedenen Kupferoxyduls befreit war und über Nacht im Vacuum über Schwefelsäure gestanden hatte, die charakteristischen tiefblauen, rhombischen Krystalle des Sarkosin-Kupfers. Absoluter Alkohol veränderte die Krystalle nicht, schied aber einen grünlich-blauen klebrigen Körper aus, der zunächst durch Trocknen der Krystalle zwi-

schen Fließpapier zum Theil beseitigt wurde. Zur weiteren Reinigung der aneinanderhaftenden Krystalle wurden sie in einer Porzellanschale mit wenig Wasser kurze Zeit in Berührung gelassen und diese Operation noch einmal wiederholt. Nach darauffolgender Behandlung mit Alkohol und Aether wurde ein lockeres Krystallpulver erhalten, welches unter dem Mikroskope nur die dicken, rhombischen Tafeln des Sarkosin-Kupfers zeigte.

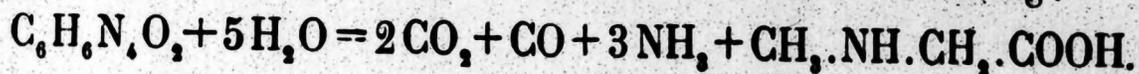
Die Analyse des lufttrockenen Präparates ergab:

0,2461 gr. Substanz, nach Kjeldahl behandelt, ergab 10,34 % N.

Verlangt ist für  $(\text{CH}_3 \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COO})_2 \text{Cu} + 2 \text{aq}$  10,18 % N.

» » » Glycocoll-Kupfer . . . . . 12,23 » »

Das Ergebniss der bisherigen Versuche ist also: Heteroxanthin wird durch conc. Salzsäure oder durch verd. Schwefelsäure der angegebenen Concentration genau in derselben Weise gespalten, wie es für ein im Harnstoffkern methylyirtes Xanthin verlangt ist. Es zerfällt nämlich 1 Molekül Heteroxanthin in 2 Moleküle Kohlensäure, 1 Molekül Kohlenoxyd, 3 Moleküle Ammoniak und 1 Molekül Sarkosin nach der Gleichung:



### B. Ueberführung des Heteroxanthins in Caffein.

Ein anderer Weg, um Aufschluss über die Constitution des Heteroxanthins zu erhalten, ist der folgende: Wenn Heteroxanthin thatsächlich ein Methylxanthin ist, musste es gelingen, durch Einführung weiterer Methylgruppen bekannte Dimethyl- und Trimethyl-derivate zu erhalten. Von den 3 möglichen Dimethylxanthinen sind bisher 2 bekannt: das Theobromin und das Theophyllin. Da letzteres beide Methylgruppen im Alloxankern enthält, kann es nach dem Ergebniss der angeführten Versuche nicht durch Methylyrung aus dem Heteroxanthin erhalten werden. Von Trimethylxanthinen existirt nur eines: das Caffein.

Die bisher zur Methylyrung von Alloxurbasen angewendeten Methoden sind die 3 folgenden:

1. Einwirkung von Methyljodid auf die Bleiverbindungen der Basen im geschlossenen Rohr.

2. Einwirkung vom Methyljodid auf die Silberverbindungen der Basen im geschlossenen Rohr.
3. Einwirkung von Methyljodid auf die Lösung der Base in alkoholischer Kalilauge am Rückflusskühler.

Von den genannten Methoden wurde zur Methylierung des Heteroxanthins die letzte angewendet.

0,9 gr. Heteroxanthin wurden mit 12 cbcm. einer 5,4proc. alkoholischen Kalilösung behandelt, darauf mit so viel Wasser in der Wärme versetzt, bis das Heteroxanthin vollkommen in Lösung gegangen war. Die auf Zusatz des gleichen Volumens Alkohol entstandene Trübung wurde durch wenig Wasser wieder zum Verschwinden gebracht. Die so erhaltene Lösung wurde mit 1,6 gr. Methyljodid 3 Stunden am Rückflusskühler im Sieden erhalten.

Nach vollendeter Digestion wurde in das Reactionsproduct Kohlensäure eingeleitet, und die Flüssigkeit auf dem Wasserbade verdampft. Der Rückstand wurde nach Durchfeuchten mit abs. Alkohol mit heissem Chloroform mehrmals extrahirt. Der Rückstand der chloroformischen Lösung wurde noch einmal mit kaltem Chloroform aufgenommen. Nach nochmaliger Filtration und nach dem Einengen des Chloroforms schieden sich lange Nadeln aus, welche zur weiteren Reinigung aus Wasser umkrystallisirt wurden. Beim Erkalten der wässerigen Lösung erstarrte dieselbe zu einem Krystallbrei, aus langen, seideglänzenden und büschelförmig zusammenliegenden Nadeln bestehend. Die Löslichkeitsverhältnisse waren die des Caffeins: die Substanz war in heissem Wasser und Alkohol leicht, sehr leicht schon in kaltem Chloroform löslich. Die Reaction mit Chlorwasser trat sehr scharf ein; der Schmelzpunkt lag bei 230°.

Die Analyse der bei 100° getrockneten Substanz ergab:

|  |           |
|--|-----------|
| 0,1034 gr. Substanz, nach Kjeldahl behandelt, ergab 29,04 % N. |           |
| Verlangt ist für $C_8H_{10}N_4O_2$ . . . . .                   | 28,87 » » |

Es sei noch bemerkt, dass die verd. wässerige Lösung des Körpers weder mit ammoniakalischer Silberlösung noch mit Kupfersulfat-Natriumbisulfit einen Niederschlag gab; Eigenschaften, welche ebenfalls mit denen des Caffeins übereinstimmen.



ihrer schwerlöslichen Homologen bei Thieren in Anwendung kamen, hat E. Salkowski neuerdings das Piperazin in Vorschlag gebracht<sup>1)</sup>. Dieser Körper hat sich auch für das Heteroxanthin als ein gutes Lösungsmittel bewährt. Man benutzt zweckmässig eine Lösung von 1—2 Gewichtstheilen Heteroxanthin und 2 Theilen Piperazin auf 100 Theile Wasser, wobei zu beachten ist, dass die concentrirteren Gemische nach einigen Tagen weisse Krusten abzusetzen pflegen.

Die Wirkung des Heteroxanthins beim Frosch wird am Besten durch einige Beispiele verdeutlicht:

- I. Esculenta von 35 gr. 0,02 gr. Heteroxanthin in den Rückenlymphsack.  
 12 U. 30 M. Injection.  
 12 » 40 » Vollständiger Stillstand der Athmung, bis zum Tode des Thieres andauernd.  
 1 » 0 » Das Thier hat bisher regungslos gesessen. Beim Ergreifen wehrt es sich kräftig.  
 1 » 5 » Weniger kräftige Abwehr, keine spontanen Bewegungen.  
 1 » 10 » Das Thier liegt vornübergesunken mit geschlossenen Lidern, die augenscheinlich gelähmten Vorderbeine unter den Rumpf geschoben. Auf den Rücken gelegt bleibt es liegen.  
 1 » 30 » Es ist kein Lebenszeichen mehr erfolgt. Doch treten bei Stichen in die Hinterbeine noch Reflexbewegungen auf.  
 Die Section ergibt 16<sup>2)</sup>) regelmässige Herzcontractionen in der Minute.
- II. Esculenta von 26 gr. 0,024 gr. Heteroxanthin in den Rückenlymphsack.  
 1 U. 5 M. Injection.  
 1 » 11 » Athmung bis auf Spuren verschwunden, hört bald vollständig auf. Bewegt sich nur auf Reize und zwar träge, krötenartig, bleibt auf dem Rücken liegen. Die Vorderbeine behalten jede ihnen gegebene Stellung bei.  
 1 » 15 » Reflexe fast aufgehoben. Vorderbeine krummstarr, Hinterbeine schlaff.  
 1 » 28 » Bisher kein spontanes Lebenszeichen. Geringe Reste von Reflexerregbarkeit an den Hinterbeinen.  
 1 » 36 » Macht gereizt einen schwachen Sprung ausschliesslich mit Hülfe der Hinterbeine, sitzt dann, auf die gestreckten

<sup>1)</sup> Ber. f. d. ges. Physiologie 1894, Bd. 56, S. 349.

<sup>2)</sup> Die geringe Pulsfrequenz erklärt sich daraus, dass wir an Winterfröschen experimentirten.

starren Vorderbeine gestützt, mit hoch aufgerichtetem Kopf und geschlossenen Lidern.

- 1 » 40 » Wird noch lebend in den Topf zurückgebracht. Nach einigen Minuten tritt der Tod ein.

III. Esculenta von 25 gr. 0,01 gr. Heteroxanthin in den Rückenlymphsack.

10 U. 57 M. Injection.

11 » 8 » Keine Störung.

11 » 22 » Athmung etwas oberflächlich, sonst nichts Besonderes

11 » 30 » Athmung seltener, sehr oberflächlich.

11 » 35 » Athmung steht still. Normale Haltung, ab und zu spontane Bewegungen, Augen offen.

11 » 48 » Die Haltung ist passiv geworden, der Kopf vornüber-gesunken; die Lidspalte verkleinert sich.

11 » 53 » Keine Bewegung. Die nach hinten geschobene Vorderpfote bleibt liegen; das Thier macht keinen Versuch, aus seiner unnatürlichen Lage herauszukommen.

12 » 18 » Augen völlig geschlossen, keinerlei Bewegung.

12 » 25 » Das Thier wird auf den Rücken gelegt (es war seit der Injection noch nicht berührt worden). Es macht dabei schwache Abwehrbewegungen, bleibt dann mit krummstarrten Vorderbeinen, halbgebeugten schlaffen Hinterbeinen auf dem Rücken liegen.

Section (bei noch bestehenden Spuren von Reflexen) ergibt 30 Herzschläge in der Minute.

IV. Esculenta von 40 gr. 0,01 gr. Heteroxanthin in den Rückenlymphsack.

a) 11 U. 30 M. Injection.

12 » 10 » Bisher, abgesehen von leichter Unregelmässigkeit und Oberflächlichkeit der Athmung, Alles normal. Jetzt zeigen sich die Vorderbeine paretisch und steif; eine vorsichtig erhobene Pfote bleibt in schwebender Stellung.

12 » 16 » Das Thier hält andauernd das steife Vorderbein in der Schwebe. Reflexe vorhanden. Körperhaltung gut.

12 » 20 » Beim Ergreifen wehrt sich der Frosch kräftig, auch mit den Vorderbeinen, bleibt aber auf dem Rücken liegen. Athmung ziemlich normal.

12 » 30 » Das Thier, bisher in Rückenlage, dreht sich bei starker Reizung langsam um. Alle Bewegungen geschehen träge.

12 » 35 » Die Athmung setzt lange Zeiten aus. Trägheit und Parese der Vorderbeine dauern fort.

Das Thier erholt sich bis zum nächsten Tage vollständig.

Dasselbe Thier erhält 24 Stunden später 0,02 gr. Heteroxanthin in den Rückenlymphsack und 0,01 gr. in den linken Oberschenkel.

b) 1 U. 30 M. Injection.

1 » 35 » Athem steht still, Lider geschlossen. Linkes Bein steif ausgestreckt, Oberschenkel hart. Reflexe gering.

2 » 15 » Es ist keine spontane Bewegung mehr erfolgt. Schwache Reste von Reflexen. Section: 19 Herzschläge in der Minute.

V. Esculenta von 20 gr. 0,005 gr. Heteroxanthin in den Rückenlymphsack.

a) 11 U. 30 M. Injection.

12 » 35 » Während der einstündigen Beobachtung ist ausser merklicher Beschleunigung der Respiration nichts Auffälliges vorgekommen. Das Thier ist munter.

Dasselbe Thier erhält 24 Stunden später 0,004 gr. Heteroxanthin in die Beugemuskulatur des linken Oberschenkels.

b) Sehr bald stellt sich der Oberschenkel bei gestrecktem Knie in stärkste Flexion, so dass beim Vorwärtskriechen die Hinterpfote den Kopf bestreicht. Dieser Zustand dauert etwa 20 Min. und verliert sich dann vollständig. Das Allgemeinbefinden des Thieres bleibt ungestört.

Aus diesen Beispielen geht Folgendes hervor:

Das Heteroxanthin übt, wie das Paraxanthin, theils eine örtliche, theils eine allgemeine Wirkung aus. Die örtliche Wirkung betrifft die Muskeln. Sie besteht in einer rasch eintretenden Contraction und Erstarrung der betroffenen Muskelgruppen, die übrigens unter Umständen völliger Rückbildung fähig sind. Die allgemeine Wirkung zeigt sich in Veränderungen der Athmung, der Bewegungen und der Reflexe. Die Respiration wird allmähig, bei grösseren Dosen sehr rasch, gelähmt, bei kleineren Gaben vielleicht vorübergehend beschleunigt. Die Bewegungen der Skelettmuskulatur werden nach und nach träge und unbehülflich, zuerst an den Vorderbeinen, die kurz vor dem Tode zu erstarren pflegen. Die Reflexe sinken ohne vorherige Steigerung. Die Herzthätigkeit bleibt bis zum Tode erhalten.

Ein Vergleich mit den Symptomen der Paraxanthinvergiftung<sup>1)</sup> ergibt eine fast völlige Uebereinstimmung, die

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chemie, 1888, Bd. XIII, Heft 1 u. 2, S. 187 bis 195 (Georg Salomon: Die physiologischen Wirkungen des Paraxanthins).

wiederum auf eine nahe chemische Verwandtschaft beider Körper deutet. Dagegen besteht ein höchst auffallender Unterschied in der Intensität der Wirkung. Vom Paraxanthin genügen 6—8 mgr., um bei einer Esculenta von 40 gr. den Tod herbeizuführen<sup>1)</sup>. Das Heteroxanthin blieb in der Gabe von 5 mgr. bei einem kleinen Thier von 20 gr. überhaupt wirkungslos. 1 Centigramm tödtete allerdings einen Frosch von 25 gr., verursachte aber bei einem Exemplar von 40 gr. nur vorübergehende Störungen. 0,024 gr. Heteroxanthin, eine verhältnissmässig enorme Dosis, führten bei einem kleinen Thier von 26 gr. immerhin erst nach  $\frac{3}{4}$  Stunden den Tod herbei. Nach dem allgemeinen Eindruck vielfach variirter Versuche glauben wir sagen zu müssen, dass zur Erzielung gleicher Vergiftungserscheinungen vom Heteroxanthin die 2—3fache Dosis erforderlich ist wie vom Paraxanthin.

Aehnliche Unterschiede ergeben sich bei Versuchen an weissen Mäusen. Das Paraxanthin bewirkt bei diesen Thieren Paresen der Hinterbeine, Steigerung der Reflexe, Ausbruch von Convulsionen<sup>2)</sup>. Es können tonische und klonische Krämpfe von der äussersten Heftigkeit und minutenlanger Dauer auftreten, bei denen die Thiere im Kreise gedreht, ja fusshoch in die Höhe geschneilt werden. Ein Meerschweinchen von 500 gr. Gewicht, dem 0,2 gr. Paraxanthin, unter Zusatz von Natronlauge gelöst, injicirt waren, starb nach einer halben Stunde unter Krämpfen<sup>3)</sup>. Das Heteroxanthin machte dagegen in mässiger Dosis bei Mäusen so geringe Erscheinungen, dass von einer experimentellen Verfolgung derselben vorläufig Abstand genommen wurde.

Vor Kurzem haben Bondzynski und Gottlieb<sup>4)</sup> nach der Einführung von Caffein und Theobromin in den thierischen Organismus ein Methylxanthin im Harn gefunden, das sie

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chemie, 1888, Bd. XIII, Heft 1 u. 2, S. 189.

<sup>2)</sup> Ebenda S. 194—195.

<sup>3)</sup> Dieselbe Dosis, bei einem Kaninchen in die Jugularis injicirt, blieb allerdings ohne jede Wirkung.

<sup>4)</sup> Ber. d. Chem. Ges., Jahrg. XXVIII, Heft 9, S. 1113—1118.

durch Methylierung in Caffein unwandeln konnten. Ohne bei dem Mangel an genügenden Beweisen die Identität ihres Methylxanthins mit dem Heteroxanthin behaupten zu wollen, gelangen sie zu der Vermuthung, dass die Muttersubstanz des letzteren in den höher methylieren Xanthinderivaten der Pflanzennahrung zu suchen sei. Unseres Erachtens kommen für die Entstehung der methylieren (oder äthyliren) Alloxurbasen des Harns, also des Heteroxanthins und Paraxanthins, folgende vier Möglichkeiten in Betracht:

1. Die Körper werden als solche aus der Nahrung aufgenommen und passiren unverändert den Thierkörper. Für diese Annahme fehlt der Nachweis des Hetero- und Paraxanthins in thierischen und pflanzlichen Geweben. Ferner verfügen wir über einen Versuch, bei dem von 0,2 gr. Paraxanthin, die in die Jugularis eines Kaninchens eingeführt waren, im Harn keine Spur wieder erschien. Endlich ist daran zu erinnern, dass nach mehrfachen Erfahrungen die Nucleinbasen Xanthin und Hypoxanthin im Thierkörper fast vollständig oxydirt werden<sup>1)</sup>.

2. Sie werden synthetisch aus N-haltigen Körpern einfacherer Zusammensetzung, z. B. Ammoniaksalzen, gebildet. Dagegen spricht, dass eine Bildung von Basen auf diesem Wege beim Menschen überhaupt noch nicht erwiesen ist; bei Hühnern wird allerdings aus Ammoniaksalzen Harnsäure aufgebaut.

3. Sie entstehen durch Methylierung (Aethylierung) aus dem Xanthin der Zellkerne. Dass der Organismus energischer Methylierungen fähig ist, zeigen besonders deutlich die Beobachtungen von Hofmeister<sup>2)</sup> über Bildung von Tellur-methyl nach Einführung tellursaurer und tellurigsaurer Salze. Um zu erfahren, ob sie für unsern Fall in Betracht kommen,

<sup>1)</sup> Vgl. z. B. in Betreff des Hypoxanthins die Arbeit von A. Baginsky (Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. VIII, S. 395—403). Wir selbst fanden von 0,5 gr. auf einmal verfütterten Xanthins im Harn eines Kaninchens Nichts wieder.

<sup>2)</sup> «Ueber Methylierung im Thierkörper». Arch. f. exp. Pathol., Bd. 33, 2. u. 3. Heft, S. 198.

müsste man bei gesteigertem Kernzerfall, ausser auf die schon nachgewiesene Vermehrung der Nucleinbasen, auch auf eine etwaige Zunahme der methylylirten Alloxurbasen achten.

4. Heteroxanthin entsteht aus Caffein oder Theobromin durch Abspaltung von Methylgruppen (das Paraxanthin, dessen Constitution noch unbekannt ist, kann hier nicht berücksichtigt werden). Ob dieser von Bondzyński und Gottlieb angenommene und durch ihre Versuche als möglich erwiesene Hergang für die normalen Lebensverhältnisse des Menschen zutrifft, wäre durch Eingeben reichlicher Mengen von Kaffee, Thee oder Cacao, resp. Entziehung dieser Substanzen zu prüfen. Ausschliessliche Gültigkeit hat er sicher nicht, wie das Vorkommen des Heteroxanthins im Hundeharn beweist.

Um mit Bestimmtheit die Frage nach dem Ursprunge des Hetero- und Paraxanthins zu entscheiden, müssten jedenfalls zuvor die normalen Ausscheidungsmengen beider Körper festgestellt werden; auch würde es sich empfehlen, die pflanzlichen Nahrungsstoffe nochmals auf das Vorhandensein geringer Mengen von höher methylylirten Xanthinderivaten zu untersuchen.

---