

Die Alloxurbasen des Harnes.

Von

Martin Krüger und Georg Salomon.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Institutes zu Berlin.

(Der Redaction zugegangen am 2. November 1898.)

II. Mittheilung.¹⁾

In der ersten²⁾ über «die Alloxurbasen des Harnes» veröffentlichten Abhandlung waren die Resultate mitgetheilt worden, welche bei der Untersuchung der nach der Neubauer'schen Methode gewonnenen Xanthin- und Hypoxanthinfrac-tion der aus 10,000 Litern Harn stammenden Basen erhalten waren. Die Isolirung der in der ersteren Fraction gefundenen Verbindungen, Xanthin, Heteroxanthin, 1-Methylxanthin und Paraxanthin, machte bis auf die Trennung des 1-Methylxanthins vom Xanthin, für welche eine geeignete Methode erst späterhin gefunden wurde, keine Schwierigkeit. Weit complicirter gestaltete sich die Untersuchung der Hypoxanthinfrac-tion, zu welcher Guanin, Adenin, Hypoxanthin, Episarkin und Epiguanin gerechnet werden. Ein mit einem Theile des Materiales angestellter Vorversuch ergab zunächst, dass in der von uns gewonnenen Hypoxanthinfrac-tion Körper vorhanden sein mussten, welche die Abscheidung der genannten, wohlcharakterisirten Basen in Form der freien Verbindungen oder schwer löslicher Salze verhinderten. Bei Anwendung von Blei-

1) Ein kurzer Auszug der vorliegenden Mittheilung findet sich in den «Sitzungsberichten der Königl. Preuss. Akademie der Wissensch. zu Berlin», 1898, IV, 20. Januar.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXIV, S. 364 ff.

salzen zur Fällung (Bleiacetat, bas. Bleiacetat, Bleiacetat plus Ammoniak) glückte es, das Gemisch in einzelne Gruppen zu scheiden, aus welchen Adenin, Epiguanin und Hypoxanthin isolirt werden konnten: vor Allem wurde aber die Anwesenheit von noch beträchtlichen Mengen an Xanthin und 1-Methylxanthin nachgewiesen, von Körpern, welche zur Xanthinfrac-tion gehören.

Obwohl in unserem Falle bei der Scheidung der Alloxur-basen in die beiden Fractionen nach Neubauer Salpetersäure durchaus nicht gespart worden war, war dennoch das Ziel nicht erreicht. Es lag nahe, die Hypoxanthinfrac-tion noch einmal der Behandlung mit heisser verdünnter Salpetersäure vom specifischen Gewichte 1,1 zu unterziehen. Hiervon wurde aber aus Gründen, welche H. Huppert in der neuesten (10.) Auflage des Lehrbuches von Neubauer und Vogel (S. 873) erwähnt, und auf welche wir am Schlusse der Mittheilung zurückkommen werden, abgesehen, zumal sich im Laufe der weiteren Unter-suchung eine Methode ergab, welche in einfacherer Weise das von Neubauer erstrebte Ziel erreicht. Dieselbe beruht auf der bekannten Eigenschaft der Salze des Xanthins und seiner Homo-logen, durch Wasser leicht in die schwer löslichen Basen und Säure zerlegt zu werden, während die Salze der zur Hypo-xanthinfrac-tion gehörigen Basen beständig und in Wasser leicht löslich sind.

Bei Durchsicht der Literatur fanden wir, dass schon Scherer¹⁾ die von Liebig und Wöhler²⁾ festgestellte Schwer-löslichkeit des Xanthins in heisser verdünnter Salzsäure zur Trennung dieser Base von Hypoxanthin und Guanin benutzt hat. Da Heteroxanthin und 1-Methylxanthin in überschüssiger heisser Salzsäure leicht löslich sind, so muss bei der Scheidung dieser Basen von den Körpern der Hypoxanthinfrac-tion ein Ueberschuss an Säure und Erwärmen vermieden werden. Um erstere Bedingung herzustellen, war es am zweckmässigsten, die Lösung des Basengemisches in Salzsäure zur Trockne ein-

1) Ann. d. Chem. **112**, 262.

2) Ibid. **26**, 340.

zudampfen. Bei der Behandlung des Rückstandes mit kaltem Wasser durfte man dann eine ziemlich vollständige Zerlegung des Gemenges in zwei Gruppen erwarten, deren eine aus Xanthin, Heteroxanthin und 1-Methylxanthin besteht, deren andere die übrigen Alloxurbasen des Harnes mit Einschluss des in Wasser leicht löslichen Paraxanthins enthält.

Es schien zunächst von Wichtigkeit, das Verhalten der einzelnen Basen für sich bei der Behandlung mit Salzsäure und Aufnehmen des Rückstandes mit Wasser kennen zu lernen, um ein Urtheil über die Brauchbarkeit der Methode zu gewinnen. Es wurden daher je 0,1 gr. der einzelnen Basen nach dem Auflösen in verdünnter Salzsäure auf dem Wasserbade eingedampft, dann der Rückstand noch zweimal mit Wasser eingedunstet und mit kaltem Wasser extrahirt.

Hierbei zeigte es sich, dass der bei den Xanthinbasen, dem Xanthin selbst, Heteroxanthin und 1-Methylxanthin, erhaltene Rückstand beim Trocknen allmählich die gebundene Salzsäure verlor, sodass ein Gemenge von freier Base und salzsaurem Salze zurückblieb. Beim Digeriren mit Wasser erfolgt dann die Dissociation des salzsauren Salzes, die freie Base blieb ungelöst, und nur ein geringer Theil derselben, verhältnissmässig am meisten beim 1-Methylxanthin, ging in das Filtrat über.

Ganz anders verhalten sich die übrigen Basen. Der Verdampfungsrückstand blieb auch nach längerem Erwärmen grösser, als für die entsprechenden salzsauren Salze berechnet war. Er löste sich beim Adenin spielend in Wasser, beim Epiguanin blieb nur ein geringer Theil ungelöst, der aber nach Zusatz von sehr wenig Salzsäure sofort verschwand. Beim Hypoxanthin (vgl. Scherer, Ann. d. Chem. **112**, 262) blieb gleichfalls ein deutlicher Rückstand, aus freier Base bestehend, der bei mässigem Erwärmen in Lösung ging und sich dann erst im Verlaufe von 24 Stunden wieder ausschied. Wird dagegen nach dem Auflösen etwas Salzsäure zugegeben, so tritt eine Ausscheidung nicht mehr ein.

Nach diesen Vorversuchen war zu erwarten, dass eine Trennung des 1-Methylxanthins, welches in Wasser und sehr

verdünnter Salzsäure am leichtesten von den genannten Xanthinbasen¹⁾ löslich ist, von Hypoxanthin, dessen Salze gleichfalls zum Theil dissociirbar sind, am meisten Schwierigkeiten machen würde. Folgender Versuch zeigt jedoch, dass beide, wenn auch nicht quantitativ, so doch in einer zum Nachweis derselben hinreichenden Weise getrennt werden können. Ein Gemenge von 0,1370 gr. Methylxanthin und 0,1170 gr. Hypoxanthin wurde wie oben angegeben behandelt, der Rückstand mit Wasser extrahirt, mit möglichst wenig Wasser salzsäurefrei, dann mit Alkohol und Aether gewaschen. Der Rückstand 0,1100 gr. enthielt 33,54% N (anstatt 33,73%, berechnet für Methylxanthin); das Filtrat gab, nach dem Einengen auf 10 cem., mit Pikrinsäure sofort sehr schöne Krystalle des Hypoxanthinpikrates.

Es war also bei diesem Versuche alles Hypoxanthin in Lösung gegangen: das ist bei Verarbeitung grösserer Mengen von Basengemischen um so eher zu erwarten, als hier der Ueberschuss an Salzsäure schwieriger vertrieben werden kann und eine zur Verhinderung der Dissociation des salzsauren Hypoxanthins hinreichende Menge an Säure zurückbleiben wird.

Bei Anwendung des besprochenen Verfahrens darf man demnach hoffen, eine ziemlich vollständige Trennung der Xanthinbasen vom Adenin, Hypoxanthin und Epiguanin zu erzielen, so dass der Nachweis und die Isolirung der drei letzteren Körper keine Mühe mehr verursachen wird.

Trennung der Basen der Hypoxanthinfraction.

Der Plan für die Trennung der 5 in der Hypoxanthinfraction gefundenen Basen, Xanthin, 1-Methylxanthin, Epiguanin, Adenin und Hypoxanthin, war folgender: Nachdem durch Behandeln der salzsauren Salze mit Wasser die Hauptmenge des Xanthins und 1-Methylxanthins von den übrigen Basen entfernt war, sollte die salzsaure Lösung mit Ammoniak schwach übersättigt werden, wobei das in Ammoniak sehr schwer lösliche Epiguanin sich ausscheiden

¹⁾ Unter Xanthinbasen sind nur Xanthin und seine Homologen zu verstehen.

musste. Das Filtrat sollte dann nach Vertreibung des Ammoniaks mit Pikrinsäure zur Fällung des Adenins versetzt und schliesslich Hypoxanthin als schwer lösliches Nitrat isolirt werden.

Der Versuch ergab die vollständige Brauchbarkeit der Methode. Sie bedurfte nur insofern einer Erweiterung, als in dem Filtrate vom Hypoxanthinnitrat noch grössere Mengen von Basen gelöst blieben. Es war dies derjenige Theil der Xanthinbasen, welcher beim Digeriren des Abdampfrückstandes der salzsauren Lösung mit Wasser mitgelöst war.

Die nach Ausführung der früheren Versuche¹⁾ noch restirende Menge der mit Wasser zu einem Schlamm angerührten Hypoxanthinfraktion betrug 1475 gr. Sie wurde in einer 10 Liter-Flasche mit Wasser stark verdünnt, mit Ammoniak übersättigt, die Mischung tüchtig durchgeschüttelt und der Niederschlag durch Waschen mit ammoniakhaltigem Wasser, dann mit reinem Wasser von Salpetersäure befreit. Die Silberverbindungen der Basen wurden darauf in einem 2 Liter-Rundkolben mit heissem Wasser übergossen und in der Wärme durch verdünnte Salzsäure zersetzt. Der Augenblick der völligen Umsetzung ist leicht an dem Farbenumschlag von röthlichgelb nach weiss und dem leichten Absitzen des Chlorsilbers zu erkennen. Alsdann gibt man noch die gleiche Menge der verbrauchten Salzsäure hinzu, filtrirt die siedend heisse Lösung und wäscht das Chlorsilber mit salzsäurehaltigem Wasser aus.

Das ziemlich stark gelb gefärbte Filtrat wird durch möglichst wenig Flemming'sche Kohle entfärbt und die Thierkohle durch Auskochen mit stark verdünnter Salzsäure von Basen befreit. Die vereinigten salzsauren Lösungen werden dann in einer grossen flachen Porzellanschale eingedampft, zuletzt bei niederer Temperatur, indem man zur schnelleren Vertreibung der Salzsäure die dickliche Flüssigkeit durch Hin- und Herbewegen der Schale ausbreitet und einen Luftstrom darüber leitet. Den syrupösen Rückstand dampft man darauf mehrmals mit 96%igem Alkohol ein, wodurch er pulverig wird: immerhin enthält er noch grössere Mengen freier Salzsäure.

1) S. die 1. Mittheilung, S. 378.

Der Rückstand wurde dann mit etwa 200 ccm. Wasser übergossen, längere Zeit bei 40° digerirt, dann nach mehrstündigem Stehen in der Kälte filtrirt, mit Wasser salzsäurefrei, dann mit Alkohol und Aether gewaschen. Er betrug bei 120° getrocknet 20,4 gr. Das Filtrat wurde noch einmal eingedampft und wie oben behandelt. Erhalten wurden noch 0,9 gr. Rückstand, demnach im Ganzen **21,30 gr.** Xanthin und seine Homologen.

Das salzsaure Filtrat (von 0,9 gr.) wurde heiss mit Ammoniak übersättigt und durch Filtration vom ausgeschiedenen Eisenhydroxyd befreit. Beim Erkalten scheidet sich das Epiguanin in den früher beschriebenen glänzenden Prismen aus. Beim Einengen des Filtrates wurde noch eine geringe Menge derselben Base erhalten. Die Gesamtmenge wurde in wenig Natronlauge gelöst und durch Neutralisiren mit Salzsäure wieder ausgefällt. Erhalten wurden **2,29 gr.** Epiguanin.

Die Trennung des Epiguanins von den übrigen Basen ist als eine vollständige anzusehen, da es selbst in ammoniakhaltigem Wasser, wie erwähnt, sehr schwer löslich ist.

Nach Entfernung des Epiguanins wurde die Lösung zur Vertreibung des Ammoniaks auf dem Wasserbade eingedampft, dann mit Wasser auf 500 ccm. verdünnt. Zu dieser Lösung wurde eine abgekühlte 1%ige Lösung von Pikrinsäure in kleinen Portionen so lange hinzugegeben, als noch ein Niederschlag entstand, darauf sofort filtrirt und mit kaltem Wasser gewaschen. Auf diese Weise, also unter Vermeidung eines grossen Ueberschusses von Pikrinsäure, gelingt eine Trennung des Adenins vom Hypoxanthin sehr leicht, da das Adenin in der Kälte selbst aus stark verdünnten Lösungen sofort gefällt wird. Wendet man dagegen einen Ueberschuss von Pikrinsäure an und lässt längere Zeit stehen, so scheidet sich, wie C. Wulff¹⁾ gezeigt hat, daneben ein Theil des ziemlich schwer löslichen Hypoxanthinpikrates aus. Erhalten wurden 6,20 gr. Adeninpikrat. Zur Gewinnung des in Lösung gebliebenen Adeninpikrates wurde die Mutterlauge auf etwa 150 ccm. eingedampft, mit 100 ccm. Pikrinsäurelösung versetzt, schnell

1) Diese Zeitschrift, Bd. XVII, S. 449.

abgekühlt und sofort filtrirt. Es schieden sich noch 0.23 gr. Pikrat aus, so dass in Summa **6,43** gr. Adeninpikrat erhalten wurde.

Es wurde versucht, aus dem Filtrate vom pikrinsauren Adenin das Hypoxanthin gleichfalls in Form des Pikrates zu isoliren. Thatsächlich entstand nach dem Zusatz einer stärkeren Pikrinsäurelösung und längerem Stehen ein reichlicher, schwerer und körnig krystallinischer Niederschlag, der seinem Stickstoffgehalte nach pikrinsaures Hypoxanthin war; doch gelang es auch durch Umkrystallisiren nicht, denselben in den charakteristischen Formen zu erhalten. Es entstanden nur kugelige Aggregate von Krystallen. Diese Beobachtung, dass Hypoxanthinpikrat bei Anwesenheit anderer Basen an Krystallisationsfähigkeit verliert, wurde des öfteren gemacht.

Das Filtrat vom pikrinsauren Adenin wird daher zweckmässig nach dem Versetzen mit Schwefelsäure durch Schütteln mit Benzol von Pikrinsäure befreit, mit Ammoniak im Ueberschuss und dann zur Fällung der Basen mit ammoniakalischer Silberlösung versetzt. Aus dem gewaschenen Niederschlag wurden die Basen durch Schwefelwasserstoff befreit und durch Eindampfen des Filtrates und Trocknen des Rückstandes **13** gr. derselben erhalten. Je 3 gr. wurden in 100 ccm. verdünnter Salpetersäure (90 ccm. Wasser + 10 ccm. concentrirte Salpetersäure vom spec. Gew. 1,4) in der Wärme gelöst. Beim Erkalten schieden sich sehr schnell die wetzsteinförmigen Krystalle des Hypoxanthinnitrat aus. Das Präparat machte unter dem Mikroskop den Eindruck einer völlig einheitlichen Substanz. Es wurde mit verdünnter Salpetersäure der genannten Concentration, dann mit Alkohol und Aether gewaschen. Aus den 13 gr. Rückstand wurden **8,45** gr. lufttrockenes Hypoxanthinnitrat erhalten.

Ueber die weitere Verarbeitung des Filtrates vom Hypoxanthinnitrat siehe unter V.

Der Uebersicht halber mögen die Mengen der bisher erhaltenen Produkte zusammengestellt werden:

I. **21,30** gr. Xanthin und Homologe.

II. **2,29** gr. Epiguanin.

III. **6,43** gr. Adeninpikrat.

IV. **8,45** gr. Hypoxanthinnitrat.

V. Filtrat vom Hypoxanthinnitrat.

I. Xanthin und Homologe (**21,3** gr.)

Wie in der ersten Mittheilung gezeigt, gelingt eine Trennung des 1-Methylxanthins vom Xanthin nicht durch Behandeln mit Wasser, theilweise nur bei Anwendung von basischem Bleiacetat. Verdünnte Salpetersäure, in welcher 1-Methylxanthin leicht, Xanthin dagegen schwer löslich ist, führt sehr glatt zum Ziele.

Löslichkeit des Xanthins in verdünnter Salpetersäure: 1. 0,5 gr. Xanthin, aus Guanin dargestellt, wurde mit 100 ccm. verdünnter Salpetersäure (80 ccm. Wasser + 20 ccm. concentrirte Salpetersäure) 4 Stunden auf einer Schüttelmaschine geschüttelt. Vom Filtrate wurden 25 ccm., nach Neutralisation mit Ammoniak, mit Kupfersulfat und Natriumbisulfat gefällt. Bei einer N-Bestimmung des Niederschlages nach Kjeldahl wurden 4,55 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure verbraucht. 2. Das rückständige Xanthin wurde noch einmal in derselben Weise behandelt. Verbraucht für 25 ccm. des Filtrates (nach Behandlung wie oben) 4,50 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure.

Nach Versuch 1 ist die Löslichkeit des freien Xanthins in verdünnter Salpetersäure (80 ccm. Wasser + 20 ccm. concentrirte Salpetersäure) **1 gr. : 1445** ccm.

Löslichkeit des 1-Methylxanthins in verdünnter Salpetersäure: 0,2 gr. der Base lösen sich leicht in 10 ccm. Salpetersäure derselben Concentration und bleiben auch nach mehrtägigem Stehen gelöst.

Die Trennung des Xanthins vom 1-Methylxanthin wird in folgender Weise ausgeführt: Je 3 gr. des Gemisches werden in 25 ccm. N.-Natronlauge in der Wärme gelöst; die nach Zusatz des gleichen Volumens Wasser auf 60° erwärmte Lösung wird in ein kaltes Gemisch aus 20 ccm. concentrirter Salpetersäure und 30 ccm. Wasser langsam und unter stetigem Umrühren eingegossen. Kühlt man darauf die Flüssigkeit in kaltem Wasser, so tritt sehr bald eine reichliche, voluminöse Ausscheidung ein, die unter dem Mikroskope aus zu Rosetten vereinigten feinen Nadelchen besteht, während salpetersaures Xanthin sich in reinem Zustande als schweres Krystallpulver

niederschlagen soll, das zu Drusen vereinigte Blättchen zeigt. Der Niederschlag wurde nach mehrstündigem Stehen (bei etwa 4°) abfiltrirt. Zur weiteren Reinigung wurden je 3 gr. des lufttrockenen, rohen Xanthinnitrates mit wenig Wasser übergossen, die Mischung mit Natronlauge in der Kälte neutralisirt, dann auf 60° erwärmt und das freie Xanthin durch weiteren Zusatz von Natronlauge in Lösung gebracht. Die mit Wasser auf 50 ccm. verdünnte und auf 60° erwärmte Lösung wurde dann wieder, wie oben angegeben, in ein kaltes Gemisch aus 20 ccm. concentrirter Salpetersäure und 30 ccm. Wasser allmählich eingetragen. Der nach mehrstündigem Stehen in der Kälte erhaltene Niederschlag wurde noch ein drittes Mal in derselben Weise behandelt. Nunmehr schied sich das salpetersaure Xanthin in der gewünschten Form ab: das schwere Krystallpulver zeigte unter dem Mikroskope durchgehends eine vollkommen gleichartige Beschaffenheit und war in Folge der Behandlung mit Salpetersäure rein weiss.

Zur Darstellung des freien Xanthins wurde das Salz in Ammoniak gelöst und die Lösung nach dem Filtriren eingedampft. Hierbei schied sich die Base in amorphen Krusten aus. Der Rückstand wurde mit kaltem Wasser gewaschen, dann mit Alkohol und Aether. Er betrug, bei 130° getrocknet, 4,20 gr. Die Analyse ergab:

1. 0,097 gr. Substanz, bei 150° getrocknet, verbrauchten nach Kjeldahl 25,3 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure.

2. 0,0961 gr. Substanz, bei 150° getrocknet, verbrauchten nach Kjeldahl 25,25 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure.

3. 0,2481 gr. Substanz, bei 150° getrocknet: 0,3600 gr. CO_2
0,0637 gr. H_2O .

Berechnet für $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_2$: C = 39,47 %, H = 2,63 %, N = 36,84 %.

Gefunden: C = 39,57 %, H = 2,85 %, N = 36,51 %, 36,78 %.

Somit ist hier zum ersten Male Xanthin in reinem Zustande aus Harn isolirt worden.

Methylxanthin.

Die vereinigten salpetersauren Filtrate vom Xanthinnitrat wurden zur Gewinnung des 1-Methylxanthins mit Ammoniak

übersättigt und eingedampft, wobei sich die Base in den früher beschriebenen, zu Drusen vereinigten, atlasglänzenden Blättchen ausschied. Der Körper wurde in 3,3^o/oiger Natronlauge gelöst — da während 24stündigen Stehens bei gewöhnlicher Temperatur keine Ausscheidung erfolgte, konnte Heteroxanthin nicht beigemischt sein — und die Lösung heiss mit verdünnter Salzsäure ganz schwach angesäuert. Das 1-Methylxanthin fiel als schweres, aus Rosetten bestehendes, nur wenig glänzendes Krystallpulver nieder. Die Menge desselben betrug nach dem Auswaschen mit Wasser, Alkohol und Aether und nach dem Trocknen bei 100° **11,27 gr.** Es musste — entsprechend der Löslichkeit des Xanthins in Salpetersäure — noch Xanthin enthalten: doch kann der Gehalt an letzterem, wie aus der Analyse und vor Allem aus den N-Bestimmungen zu ersehen ist, nur gering gewesen sein. Die Analyse ergab:

1. 0,1076 gr. Substanz, bei 130° getrocknet, verbrauchten nach Kjeldahl 26,00 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure.

2. 0,1020 gr. Substanz, bei 130° getrocknet, verbrauchten nach Kjeldahl 24,6 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure.

3. 0,1622 gr. Substanz, bei 130° getrocknet: 0,2560 gr. CO_2 , 0,0555 gr. H_2O .

$\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_2$. Berechnet: C = 43,37 %, H = 3,61 %, N = 33,73 %.

Gefunden: C = 43,04 %, H = 3,80 %, N = 33,83 % 33,76 %.

Da die Mutterlaugen vom 1-Methylxanthin noch grössere Mengen an Basen enthielten, wurden sie mit ammoniakalischer Silberlösung behandelt und der Niederschlag in der üblichen Weise zersetzt. Die durch Eindampfen der schliesslich erhaltenen wässerigen Lösung gewonnenen Basen wurden in der fünffachen Menge 3,3^o/oiger Natronlauge gelöst. Nach längerem Stehen in der Kälte schied sich Heteroxanthin-Natrium aus, dessen Menge, nachdem es mit Natronlauge, Alkohol und Aether gewaschen war, 1,84 gr. (entsprechend 1,1 gr. freien Heteroxanthins) ausmachte. Aus dem Filtrat vom Heteroxanthin-Natrium konnten durch Neutralisation mit Salzsäure noch 3,2 gr. 1-Methylxanthin isolirt werden.

0,1135 verbrauchten nach Kjeldahl 27,25 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure.

Berechnet für $\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_2$: N 33,73 %; gefunden N 33,61 %.

Löslichkeit des Heteroxanthin-Natriums in verdünnter Natronlauge:

1. 0,5 gr. Heteroxanthin-Natrium wurden mit 50 ccm. 3,3%iger Natronlauge $2\frac{1}{2}$ Stunden auf der Schüttelmaschine geschüttelt. Mit 25 ccm. des Filtrates wurde eine N-Bestimmung nach Kjeldahl ausgeführt. Verbraucht 2,95 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure.

2. Der Rückstand wurde noch einmal mit 50 ccm. 3,3%iger Natronlauge $3\frac{1}{2}$ Stunde geschüttelt. Verbraucht wurden auf 45 ccm. des Filtrates 5,15 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure.

Demnach ist die Löslichkeit des Heteroxanthin-Natriums auf freie Base berechnet: 1. 1 : 2050. 2. 1 : 2105. im Mittel 1 gr. : 2077 ccm. 3,3%iger Natronlauge.

Löslichkeit des Heteroxanthin-Silbernitrats in Salpetersäure vom specifischen Gewicht 1,1. 1 gr. Heteroxanthin-Silbernitrat wurde mit 100 ccm. Salpetersäure vom specifischen Gewicht 1,1, welche 1 gr. Silbernitrat enthielt, $6\frac{1}{4}$ Stunden lang auf der Schüttelmaschine geschüttelt. In 50 ccm. des Filtrates wurde Heteroxanthin-Silber durch schwaches Uebersättigen mit Ammoniak ausgefällt, der Niederschlag vollständig mit reinem Wasser ausgewaschen und der N-Gehalt desselben bestimmt. Verbraucht 4,27 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure. Demnach ist die Löslichkeit des Heteroxanthin-Silbernitrates (berechnet auf freies Heteroxanthin) in Salpetersäure von 1,1 specifischem Gewicht 1 gr. : 2820 ccm.

Fraction I, bestehend aus 21,30 gr. = 20,73 gr. asche-freier Substanz, enthielt nach den mitgetheilten Resultaten 4,20 gr. Xanthin, 1,1 gr. Heteroxanthin und 15,43¹⁾ gr. 1-Methylxanthin.

II. Epiguanin (2,29 gr.).

Die zur Verfügung stehende Menge an Epiguanin soll zur Ermittlung der Zusammensetzung dieses Körpers dienen, wober wir demnächst berichten werden.

III. Adeninpikrat (6,43 gr.)

Der Zersetzungspunkt des Adenin-Pikrates lag bei 273°: reines Adeninpikrat zersetzt sich bei 279—281°. Die Analyse ergab:

0,1162 gr. Substanz, nach vorhergehender Reduction der Pikrinsäure mit Salzsäure und Zinnchlorür, verbrauchten nach Kjeldahl 25,55 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure.

Berechnet für $C_5H_5N_5 \cdot C_6H_2(NO_2)_3 \cdot OH$: N 30,77 %; gefunden: 30,78 %.

1) Die Zahl 15,43 gibt die Differenz zwischen 20,73 und (4,20+1,1) an. Isolirt wurden (s. S. 359) 11,27 + 3,2 = 14,47 gr. 1-Methylxanthin. Da aber in der Mutterlauge und im Waschwasser von den 3,2 gr. noch beträchtliche Mengen von 1-Methylxanthin gelöst blieben, so ist 15,43 gr. als die richtigere Zahl anzusehen.

Zur Gewinnung der freien Base wurden 3,0 gr. des Pikrates mit verdünnter Salzsäure in der Wärme gelöst und die heisse Lösung durch Toluol von Pikrinsäure befreit. Nach dem Eindampfen der salzsauren Lösung schied sich aus der concentrirten Lösung das Chlorhydrat in den charakteristischen, gerade abgestumpften Prismen aus. Dasselbe wurde in Wasser unter Zusatz von Ammoniak im geringen Ueberschuss gelöst und durch Einleiten von Kohlensäure freies Adenin in oktaëdrischen Krystallen erhalten. Die Analyse ergab:

0,1090 gr., bei 120° getrocknet, verbrauchten nach Kjeldahl 40,3 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure.

Berechnet für $C_5H_5N_5$: N 51,85 %, gefunden: N 51,76 %.

Das aus dem freien Adenin dargestellte Sulfat zeigte wiederum¹⁾ die Zusammensetzung $(C_5H_5N_5)_2 \cdot H_2SO_4 + 2H_2O$. Wir unterlassen die Angabe der Analyse, da schon in der ersten Mittheilung die Identität des aus Harn stammenden Adeninsulfates mit dem Sulfate des Adenins aus Theeextract bewiesen war.

IV. Hypoxanthinnitrat (8,45 gr.).

Wie schon die mikroskopische Untersuchung des Präparates vermuten liess, war das Hypoxanthinnitrat rein. Die Analyse ergab:

1. 0,1596 gr. verloren bei 105° 0,0130 gr. und verbrauchten nach Kjeldahl²⁾ 36,40 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure.

2. 0,2420 gr. verloren bei 105° 0,0201 gr.

Berechnet für $C_5H_4N_4O \cdot HNO_3 + H_2O$: H_2O 8,29 %, N 32,26 %.

Gefunden: H_2O 8,15 %, 8,31 %, N 31,93 %.

Salpetersaures Hypoxanthin, welches aus dem im Theeextracte vorkommenden Adenin dargestellt war, zeigte dieselbe Zusammensetzung.

1. 0,1656 gr. lufttrockene Substanz verbrauchten nach Kjeldahl 37,95 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure.

2. 0,1151 gr. verloren bei 120° 0,0103 gr. Bei dieser Analyse war die Temperatur versehentlich auf 120° gestiegen,

1) Vergl. I. Mittheilung, S. 393.

2) M. Krüger, Ber. d. d. chem. Ges. Bd. XXVII, S. 1633.

infolge dessen hatte das Salz wohl etwas Salpetersäure verloren.

Berechnet: H_2O 8,29%, N 32,26%.

Gefunden: H_2O 8,95%, N 32,08%.

Löslichkeit des Hypoxanthinnitrates in verdünnter Salpetersäure: 1 gr. Hypoxanthinnitrat aus Harn wurde 4 Stunden mit 60 ccm. verdünnter Salpetersäure (90 ccm. Wasser + 10 ccm. concentrirter Salpetersäure vom specifischen Gewichte 1,4) geschüttelt. In je 25 ccm. des Filtrates wurde einmal die Base mit Kupfersulfat und Natriumbisulfid, das andere Mal mit ammoniakalischer Silberlösung ausgefällt und in den Niederschlägen der N-Gehalt bestimmt.

Verbraucht 1. bei der Kupferfällung 7,80 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure.
2. bei der Silberfällung 7,70 ccm.

Nach 1. ist die Löslichkeit des Hypoxanthinnitrates (auf freie Base berechnet) in verdünnter Salpetersäure (90 ccm. : 10 ccm.) **1 gr. : 940 ccm.**

Das Hypoxanthinnitrat eignet sich demnach wegen seiner Schwerlöslichkeit in Salpetersäure sehr wohl zur Abscheidung dieser Base.

Hypoxanthinpikrat, aus dem salpetersauren Salz durch Umsetzen mit Pikrinsäure gewonnen, schied sich sofort in den schönen, tafelförmigen Krystallen aus. Seine Löslichkeit in Wasser, welche als 1 : 400 angegeben war, ist nach genauen Bestimmungen noch etwas geringer.

Löslichkeit des Hypoxanthinpikrates in Wasser:

1. Hypoxanthinpikrat aus Harn: 0,5 gr. des Pikrates wurden 2 Stunden mit 60 ccm. Wasser auf der Schüttelmaschine geschüttelt; 50 ccm. des Filtrates hinterliessen bei 100° 0,1012 gr. Der Filterrückstand wurde noch einmal 3 Stunden mit 60 ccm. Wasser geschüttelt; 50 ccm. hinterliessen 0,1019 gr.

2. Hypoxanthinpikrat aus Adenin des Theeextractes: Bei gleicher Behandlung wurden die Verdampfungsrückstände 0,1100 gr. und 0,1106 gr. erhalten. Hiernach ist die Löslichkeit des wasserfreien Hypoxanthinpikrates in Wasser:

1. aus Adenin dargestellt = **1 gr. : 492 ccm.**

2. aus Harn = **1 gr. : 453**

Hypoxanthinnatrium: Zur Darstellung des freien Hypoxanthins wurde ein Theil des salpetersauren Hypoxanthins aus Harn in Soda gelöst und die geringe Gelbfärbung der Lösung durch Aufkochen mit wenig Eisenvitriol entfernt. Beim

Eindampfen des Filtrates wurden statt des erwarteten amorphen Hypoxanthins lange prismatische, wenig glänzende Krystalle erhalten, welche, abfiltrirt, mit wenig Wasser, Alkohol und Aether gewaschen, ein weisses glanzloses Krystallpulver darstellten. Sie lösten sich leicht in Wasser mit stark alkalischer Reaction. Der Analyse nach war es das bisher nicht beschriebene Hypoxanthinnatrium. Wie aus der Darstellungsweise des Salzes hervorgeht, hat Hypoxanthin die Fähigkeit, Sodalösung in der Wärme unter Kohlensäureentwicklung und Bildung seines Natriumsalzes zu zersetzen. Die Analyse des Salzes ergab:

1. 0,1494 gr. verloren, bis auf 150° erwärmt, nicht an Gewicht und verbrauchten nach Kjeldahl 36,7 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure.

2. 0,1355 gr. gaben, mit Schwefelsäure eingedampft und geglüht, 0,0611 gr. Na_2SO_4 .

Berechnet für:	Gefunden:
$\text{C}_5\text{H}_3\text{N}_4\text{O} \cdot \text{Na}$: N 35,45%.	N 34,39%.
Na 14,56%.	Na 14,61%.

Die Substanz war jedenfalls noch durch Soda verunreinigt, daher der zu niedrige Gehalt an Stickstoff.

Hypoxanthin. Das aus der Natriumverbindung durch Salmiak erhaltene freie Hypoxanthin stellte ein undeutlich krystallisirendes Pulver dar. Die Analyse ergab:

0,1084 gr. verbrauchten nach Kjeldahl 31,75 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure.

Berechnet für $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}$: N 41,17%: gefunden: N 41,00%.

Für das Hypoxanthin ist die folgende Reaction noch besonders charakteristisch. Das Hypoxanthinnitrat löst sich, wie oben erwähnt, schwer in verdünnter Salpetersäure, ist aber leicht löslich in Wasser und wird demnach aus dieser Lösung durch Zusatz von starker Salpetersäure sofort ausgefällt, und zwar als schweres Krystallpulver, bestehend aus vierseitigen Blättchen von tonnenförmiger Gestalt. Die Vermuthung, dass hier ein Salz mit anderem Krystallwassergehalt vorliegt, wurde nicht bestätigt. Es zeigte dieselbe Zusammensetzung wie das in Wetzsteinformen krystallisirende Salz.

0,2236 gr. verloren bei 105° 0,0182 gr.

Berechnet für $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O} \cdot \text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}$: H_2O 8,29%: gefunden: H_2O 8,14%.

Dasselbe Verhalten der wässerigen Lösung eines salpetersauren Salzes gegen Salpetersäure wurde von M. Krüger und

C. Wulff¹⁾ bei einer neben Epiguanin im Harn von Irrenkranken gefundenen Base constatirt, welche in Form des Pikrates isolirt war. Darüber ist Folgendes gesagt: «Das salpetersaure Salz ist gleichfalls (wie das salzsaure und schwefelsaure Salz) in Wasser leicht löslich, scheidet sich aber, und das ist charakteristisch für die neue Base, sofort auf Zusatz von Salpetersäure im Ueberschuss in kleinen vierseitigen Blättchen aus, welche häufig in Folge von Aussenbiegung zweier Kanten ein tonnenförmiges Aussehen haben.» Die auffallende Uebereinstimmung in der Reaction, die Gleichheit der Krystallform des ausgeschiedenen Salzes liessen keinen Zweifel, dass bei den damaligen Versuchen Hypoxanthin vorgelegen hatte, auf welches auch die übrigen Eigenschaften hinweisen. Wenn das Pikrat nicht in den charakteristischen Krystallen, sondern nur in kugeligen Aggregaten erhalten war, so stimmt das vollkommen mit der wiederholt (s. oben) beim Hypoxanthinpikrat gemachten Beobachtung überein, bei Anwesenheit anderer Basen nur unvollkommen zu krystallisiren. An der geringen Menge Substanz, welche in Form des salpetersauren Salzes noch zur Verfügung stand, konnte die Identität mit Hypoxanthin leicht festgestellt werden. Das Salz löste sich leicht in Wasser, fiel auf Zusatz von concentrirter Salpetersäure sofort in vierseitigen Blättchen aus, welche sich beim Umkrystallisiren aus der Mutterlauge in wetzsteinförmige Krystalle umwandelten. Die Lösung des abfiltrirten, mit Alkohol und Aether gewaschenen Nitrates in 1,1^oiger wässriger Pikrinsäure schied beim Erkalten das Hypoxanthinpikrat in makroskopischen, tafelförmigen Krystallen aus.

V. Filtrat vom Hypoxanthinnitrat.

Es blieb noch übrig, die im Filtrate von 8,45 gr. Hypoxanthinnitrat enthaltenen Basen zu isoliren und zu untersuchen. Die Trennung derselben bereitete keine Schwierigkeiten, da nur noch ein geringer Rest von Hypoxanthin und diejenige Menge der Xanthinbasen, welche bei der Digestion des salzsauren Abdampfrückstandes der Gesamtmenge der Basen mit

¹⁾ Verh. der physiolog. Ges. zu Berlin. 1894. 3. Aug.

Wasser in Lösung gegangen war, darin enthalten sein konnte. Es war nur nöthig, das Abdampfen mit Salzsäure und Extrahiren mit Wasser noch einmal zu wiederholen.

Da die salpetersaure Lösung grössere Mengen von Kalk enthielt, so wurde dieser zunächst nach schwachem Uebersättigen mit Ammoniak durch Ammoncarbonat ausgefällt (erhalten 2.2 gr. Calciumcarbonat): dann wurden die Basen durch ammoniakalische Silberlösung gefällt, die Silberfällung durch Salzsäure zersetzt, die Lösung eingedampft, der Rückstand mit kaltem Wasser extrahirt und das Ungelöste mit Wasser salzsäurefrei, dann mit Alkohol und Aether gewaschen.

a) Untersuchung des Ungelösten. Der ungelöste Theil der Basen wurde mit 3,3%iger Natronlauge in der Wärme gelöst: beim Erkalten schieden sich 2,10 gr. Heteroxanthinnatrium (entsprechend 1,25 gr. Heteroxanthin) aus. Aus dem Filtrate wurden durch Neutralisiren mit Salzsäure 2,2 gr. 1-Methylxanthin gewonnen. Das nunmehrige Filtrat enthielt nur geringe Mengen an Basen, deren weitere Verarbeitung nicht mehr lohnend schien und welche jedenfalls noch Methylxanthin waren.

Analyse des Heteroxanthinnatriums.

0.3102 gr. Substanz verloren bei 120° 0.0955 gr. und gaben, mit Schwefelsäure eingedampft und geglüht, 0.0804 gr. Na₂SO₄.

Berechnet für:		Gefunden:
C ₆ H ₅ N ₄ O ₂ · Na + 5H ₂ O : H ₂ O	32,27%	H ₂ O 30,80%
C ₆ H ₅ N ₄ O ₂ · Na	Na 12,24%	Na 12,13%

Das Heteroxanthinnatrium war nach dem Auswaschen mit Alkohol und Aether nicht unmittelbar, nachdem es lufttrocken geworden war, analysirt worden, sondern hatte längere Zeit über Schwefelsäure gestanden: hierbei ist Krystallwasser abgegeben worden. Einer persönlichen Mittheilung des Herrn Prof. Gottlieb zufolge haben Bondzynski und Gottlieb¹⁾ ihr mit 4 Molekülen Wasser krystallisirendes Salz durch Trocknen über Schwefelsäure erhalten, während wir (vergl. die 1. Mittheilung, S. 369 und 370) die Zusammensetzung des mit 5 Mole-

1) Ber. d. deutsch. chem. Ges., XXVIII, S. 1113.

kühen krystallisirenden Salzes am lufttrocknen Präparate ermittelt hatten.

Analyse des 1-Methylxanthins:

0.1047 gr. verbrauchten 25.1 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure (nach Kjeldahl)

Berechnet für

Gefunden:

$C_8H_6N_4O_2$; N 33.73%

N 33.56%

b) Untersuchung des wässerigen Auszuges. Das salzsaure Filtrat von Heteroxanthin und 1-Methylxanthin wurde zur Beseitigung der Salzsäure mit ammoniakalischer Silberlösung versetzt, die Fällung durch Schwefelwasserstoff zersetzt und der Abdampfrückstand des Filtrates mit 25 ccm. Salpetersäure (90 ccm. Wasser + 10 ccm. conc. Salpetersäure) aufgenommen: beim Erkalten schieden sich noch 0,69 gr. Hypoxanthinmitrat aus, welches sich nach der Analyse als rein erwies.

Das Filtrat gab mit ammoniakalischer Silberlösung noch reichliche Fällung. Die aus dem Silberniederschlage isolirte Base krystallisirte beim Eindampfen in den für Paraxanthin charakteristischen Krystallen, gab unter dem Mikroskope sehr schön die Natriumverbindung und aus dieser durch Zufügen von Salmiak die freie, in sechsseitigen Blättchen krystallisirende Base. Die Gesamtmenge des durch Eindampfen erhaltenen Rückstandes, somit der letzte Rest der Basen, betrug 1.02 gr. Er wurde, da unter dem Mikroskope nur geringe Verunreinigungen wahrzunehmen waren, als Paraxanthin in Rechnung gebracht.

Die Mengen der einzelnen Basen, welche in den zur vorliegenden Untersuchung angewendeten 1475 gr. der Hypoxanthinfraction enthalten waren, sind die folgenden:

Xanthin 4.20 gr., Heteroxanthin 2.35 gr., 1-Methylxanthin 17.63 gr., Paraxanthin 1.02 gr., Hypoxanthin 5.73 gr., Adenin 2.385 gr., Epiguanin 2.29 gr.

Da die Gesamtmenge der Hypoxanthinfraction 2187 gr. betragen hatte, so sind die einzelnen Werthe mit dem Factor

2187 : 1475 = 1,483¹⁾ zu multipliciren und ergeben sich mithin die Zahlen:

Xanthin 6,23 gr., Heteroxanthin 3,485 gr., 1-Methylxanthin 26,145 gr., Paraxanthin 1,513 gr., Hypoxanthin 8,50 gr., Adenin 3,54 gr., Epiguanin 3,40 gr.

Rechnet man endlich hierzu die in der Xanthinfraktion²⁾ gefundenen Mengen: Xanthin 3,88 gr., Heteroxanthin 18,86 gr., 1-Methylxanthin 5,14 gr., Paraxanthin 13,80 gr., so sind aus den 10000 l. Harn in Summa erhalten worden:

Xanthin 10,11 gr., Heteroxanthin 22,345 gr., 1-Methylxanthin 31,285 gr., Paraxanthin 15,31 gr., Hypoxanthin 8,50 gr., Adenin 3,54 gr., Epiguanin 3,40 gr.

1-Methylxanthin.

Das neue, im Harn gefundene Methylxanthin gab bei dem direkten Vergleich mit dem von E. Fischer und Fr. Ach³⁾ synthetisch dargestellten 3-Methylxanthin völlig abweichende Reactionen: da es ferner auch nicht mit dem Heteroxanthin (7-Methylxanthin) identisch war, so konnte es nur das bisher unbekannte 1-Methylxanthin sein.

Die Verschiedenheit des neuen Methylxanthins von 3-Methylxanthin wurde bei der ersten Untersuchung durch folgende Reactionen⁴⁾ festgestellt: 1. Die freien Basen zeigten verschiedene Krystallform. 2. Das 1-Methylxanthin löste sich in verdünnten Säuren, auch in Salpetersäure, sehr leicht, das 3-Methylxanthin bedeutend schwerer. 3. Die salpetersauren

1) Bei Berechnung der in den Akademieberichten (l. c.) veröffentlichten Zahlen für die Gesammtmenge der in 10000 l. Harn enthaltenen Basen war irrthümlich der Factor 1,485 statt 1,483 in Anwendung gebracht, weshalb einige der Zahlen um Weniges zu hoch angegeben sind (vergl. unten).

2) 1. Mittheilung, S. 376.

3) Berichte d. deutsch. chem. Ges. XXXI, 1896.

4) Vergl. E. Fischer und Fr. Ach, l. c.; M. Krüger und G. Salomon, Diese Zeitschrift, Bd. XXIV, S. 381—383.

Salze und 4. die Silbernitrat-Doppelsalze zeigten durchaus abweichende Krystallformen.

Auch gegen Barytwasser verhalten sich beide Basen verschieden. Das 3-Methylxanthin gibt nach E. Fischer und Fr. Ach (l. c.) ein schwer lösliches krystallinisches Baryumsalz. Eine heisse wässerige Lösung dieser Base gibt beim Aufkochen mit Barytwasser sofort einen in schönen, stark glänzenden, sechsseitigen, sehr dünnen Blättchen krystallisirenden Niederschlag, welcher in kaltem Wasser fast unlöslich ist.

Bestimmung der Löslichkeit des 3-Methylxanthinbaryums.

0,2 gr. 3-Methylxanthin wurden mit 50 ccm. Wasser aufgeköcht und in die heisse Flüssigkeit eine siedende Lösung von 1 gr. Barythydrat in 20 ccm. Wasser hineinfltrirt. Von dem mit Wasser auf 100 ccm. aufgefüllten Gemisch wurden nach 24stündigem Stehen 50 ccm. abfltrirt und in diesen eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl ausgeführt. Verbraucht wurden 1,35 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure. Hiernach ist die Löslichkeit des 3-Methylxanthinbaryums (auf freie Base berechnet) in barythaltigem Wasser gleich 1 : 8924.

Bestimmung der Löslichkeit des 1-Methylxanthinbaryums.

Aus einer Lösung von 0,2 gr. 1-Methylxanthin und 1 gr. Barythydrat in 50 ccm. Wasser scheidet sich nach mehrtägigem Stehen kein Barymsalz aus.

Durch Einführung einer Methylgruppe in das 1-Methylxanthin entsteht wahrscheinlich Theophyllin, bei vollständiger Methylierung wurde, wie zu erwarten war, Caffein erhalten.

Der Versuch, das 1-Methylxanthin auf dem Wege über das Bromderivat durch Behandeln des letzteren mit Salzsäure oder alkoholischer Kalilauge in die 1-Methylharnsäure¹⁾ überzuführen, welche durch ihr schwer lösliches Magnesiumsalz wohl charakterisirt ist, gelang nicht.

Methylierung des 1-Methylxanthins.

1. 1 gr. Methylxanthin wurde in 6 ccm. wässriger Normalkalilauge gelöst und mit 0,85 gr. Methyljodid bei 60° bis zum Verschwinden des letzteren geschüttelt. Die mit wenig Salz-

¹⁾ E. Fischer u. H. Clemm, Ber. d. deutsch. chem. Ges., XXX, S. 3092.

säure neutralisirte Lösung schied 0,42 gr. unverändertes Methylxanthin aus. Das Filtrat wurde eingedampft und der Rückstand nach dem Anfeuchten mit Alkohol mit Chloroform in der Wärme extrahirt. Die alkoholisch-chloroformische Lösung hinterliess eine Substanz, welche in Chloroform allein sich schwer löste. Ihre Lösung in wässerigem Alkohol schied nach 24stündigem Stehen glasglänzende säulenförmige Krystalle aus. Da dieselben durch unverändertes Methylxanthin noch verunreinigt waren, so wurde eine Analyse nicht ausgeführt. Der Körper gab (abweichend vom Paraxanthin) kein schwer lösliches Natriumsalz mit 3,3 %iger Natronlauge: erst Zusatz von 33 %iger Natronlauge schied ein Salz aus. Die Silberverbindung der Base löste sich in heissem Ammoniak und fiel beim Erkalten in kurzen nadelförmigen Krystallen aus, wie es von A. Kossel¹⁾ für Theophyllinsilber angegeben ist.

2. Ueberführung in Caffein. 1 gr. Methylxanthin wurde mit 20 ccm. wässriger Normalkalilösung und 2,8 gr. CH_3I im geschlossenen Rohre während 1½ Stunden unter häufigem Umschütteln auf 60° erwärmt. Die Lösung wurde dann eingedampft und der Rückstand mit kaltem Chloroform mehrmals extrahirt. Die nach dem Verdampfen des Chloroforms zurückbleibende Substanz zeigte, aus Tetrachlorkohlenstoff umkrystallisirt, die Krystallnadeln des Caffeins. Erhalten wurde 0,69 gr. Der Körper gab die Reactionen des Caffeins und schmolz mit reinem Caffein an demselben Thermometer erhitzt bei 227° bis 228° (uncorr).

0,1748 gr. verloren bei 130° 0,0144 gr. H_2O und verbrauchten nach Kjeldahl 32,78 ccm.

Berechnet für $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}$: H_2O 8,49 %; N 26,41 %.

Gefunden: H_2O 8,24 %; N 26,25 %.

Brom-1-Methylxanthin.

Zur Darstellung des Brommethylxanthins wird 1 gr. 1-Methylxanthin mit der 6fachen Menge Brom 6 Stunden lang auf 110° erwärmt, das Reactionsprodukt bei 130° von dem überschüssigen Brom und der Bromwasserstoffsäure befreit,

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XIII, S. 298.

dann in concentrirte schweflige Säure eingetragen, abfiltrirt und mit Wasser, Alkohol und Aether gewaschen. In krystallisirter Form erhält man das Brommethylxanthin, wenn man das Rohprodukt in 30 ccm. Wasser unter Zusatz der hinreichenden Menge Natronlauge löst und die heisse Lösung in 10 ccm. siedende concentrirte Salzsäure allmählich und unter Umrühren eingießt. Der Körper scheidet sich hierbei fast sofort als schweres Krystallpulver aus, aus Pyramiden bestehend, die meistens zu garbenförmigen Aggregaten vereinigt sind.

Er besitzt keine basischen Eigenschaften mehr, löst sich schwer in Wasser und verdünnter Salzsäure und Schwefelsäure. Aus der Lösung in concentrirter Schwefelsäure (bei 100°) wird er durch Wasser unverändert ausgeschieden. Starke Salpetersäure zersetzt ihn leicht. Er löst sich leicht in Alkalien und Ammoniak: das Natriumsalz krystallisirt in sechsseitigen Blättchen. Das Brommethylxanthin ist bis 295° beständig.

1. 0.1282 gr. Substanz, bei 130° getrocknet, verbrauchte nach Kjeldahl 20.95 ccm. $\frac{1}{10}$ N.-Oxalsäure.

2. 0.1463 gr. Substanz (bei 130°) gab beim Erhitzen mit concentrirter Salpetersäure und Silbernitrat im offenen Kolben 0.1088 gr. AgBr.

3. 0.1279 gr. Substanz (bei 130°) gab, nach Carius behandelt, 0.0960 gr. AgBr.

4. 0.1966 gr. Substanz (bei 130°) gab, nach Carius behandelt, 0.1478 gr. AgBr.

Berechnet für $C_6H_5BrN_4O_2$: N 22.86%; Br 32.65%.

Gefunden: N 22.88%; Br 31.64; 31.94; 31.99%

Der Bromgehalt des Körpers wurde etwas zu niedrig gefunden, vielleicht weil ein geringer Theil des Brommethylxanthins durch Erhitzen mit Salzsäure (s. Darstellung) in die entsprechende Monomethylharnsäure übergegangen war. Dennoch gelang es nicht, durch 4stündiges Erwärmen des Brommethylxanthins mit concentrirter Salzsäure auf 125–130° diese methylirte Harnsäure darzustellen. Ein Theil der Substanz wurde vollständig zersetzt, da die Röhren sich unter starkem Druck öffneten, der Rest enthielt noch grosse Mengen an Brom. Auch durch Erhitzen des Brommethylxanthins mit 1 oder $\frac{1}{2}$ Molekülen alkoholischer Kalilauge auf 110° während 4 Stunden wurde das Brom nicht herausgeschafft. Der Röhreninhalt stellte

nach dieser Zeit eine glänzende krystallinische Masse dar, welche das Kaliumsalz des Brommethylxanthins war.

Theoretischer Theil.

In der neuesten (10.) Auflage des Lehrbuches von Neubauer und Vogel: «Anleitung zur qualitativen und quantitativen Analyse des Harns» findet sich auf S. 321—332 die Angabe, dass im Harn von Menschen 10 Alloxurbasen vorkommen: Xanthin, Heteroxanthin, Paraxanthin, Guanin, Hypoxanthin, Adenin, Episarkin, Carnin, Epiguanin und eine unbekannt, von Krüger¹⁾ entdeckte Base. Hierzu kommt noch das 1-Methylxanthin (vergl. das genannte Lehrbuch S. 868). Die unbenannte Base ist jedoch identisch mit Hypoxanthin, so dass die Zahl der im Harn vorkommenden Basen wieder auf 10 sinkt.

Diese Basen sind mit Ausnahme des Guanins, Carnins und Episarkins bei der vorliegenden Untersuchung gefunden worden. Die Feststellung der Identität resp. Nichtidentität des Episarkins und Epiguanins muss weiteren Ermittlungen vorbehalten bleiben. Wenn Guanin und Carnin nicht gefunden sind, so soll damit nicht das Fehlen dieser Basen im Harn behauptet werden, wenn wir auch andererseits nach wie vor die von Pouchet erbrachten Beweise für das Vorkommen derselben als nicht genügend betrachten können. Bei Anwendung des bisher allgemein gebräuchlichen Neubauer'schen Verfahrens zur Trennung der Alloxurbasen des Harns wird Carnin durch die Wirkung der Salpetersäure zu Hypoxanthin oxydirt und Guanin durch die dabei stets auftretende salpetrige Säure in Xanthin verwandelt. Allerdings ist auffallend, dass die Gesammtmenge des Guanins auf diese Weise verändert sein soll, während doch Adenin, welches gegen salpetrige Säure noch unbeständiger ist, gefunden ist. Jedenfalls sind bezüglich des Vorkommens von Guanin und Carnin noch weitere Untersuchungen nöthig.

Lassen die eben erwähnten Thatsachen die Neubauer'sche Methode als unbrauchbar, weil zu falschen Resultaten führend,

¹⁾ M. Krüger u. C. Wulff, Du Bois' Archiv 1894, S. 533.

erscheinen, so zeigt auch die folgende Ueberlegung, dass sie bei den Mengenverhältnissen der Basen, wie sie von uns für den Harn ermittelt sind, zur Zerlegung in eine Xanthin- und Hypoxanthinfrac-tion nicht geeignet ist. Die Anwendung der Methode beruht auf der irrigen Annahme, dass die Silbernitrat-Doppelsalze der Basen der Xanthinfrac-tion im Gegensatze zu denen der Hypoxanthinfrac-tion leicht löslich sind, daher die in allen Lehrbüchern gegebene Vorschrift, das Gemenge der Silberverbindungen aus möglichst wenig Salpetersäure vom specifischen Gewicht 1,1 umzukrystallisiren. Thatsächlich sind aber die betreffenden Verbindungen des Heteroxanthins, des 1-Methylxanthins und Xanthins gleichfalls als schwer löslich zu bezeichnen: so löst sich die Silbernitratverbindung von 1 gr. Heteroxanthin erst in 2820 ccm. Salpetersäure vom specifischen Gewicht 1,1 (s. oben): die entsprechenden Verbindungen des 1-Methylxanthins und Xanthins sind vermuthlich noch schwerer löslich. Um die Gesamtmenge des in unserem Falle gefundenen Heteroxanthins allein (22,345 gr.) als Silbernitrat-Doppelsalz in Lösung zu halten, wären also nicht weniger als 63 Liter Salpetersäure erforderlich gewesen: Sollte diese Menge nichts von der Hypoxanthinfrac-tion aufnehmen?

Zweifellos ist dem allzugrossen, in die Verlässlichkeit der Neubauer'schen Methode gesetzten Vertrauen die Schuld beizumessen, dass bisher die Isolirung der Basen der Hypoxanthinfrac-tion am meisten Schwierigkeit gemacht hat, das ist derjenigen Fraction, welche gerade die durch ihre Krystallisationsfähigkeit (Episarkin, Epiguanin), durch ihre Unlöslichkeit (Guanin) und durch die Bildung schwer löslicher Salze (Adenin, Hypoxanthin) ausgezeichneten Körper enthält. Der Grund dafür ist nunmehr ersichtlich: die Hypoxanthinfrac-tion enthielt in allen Fällen noch grosse Mengen der Xanthinfrac-tion.

Bei der neuen, auf dem Eindampfen der salzsauren Lösung der vereinigten Basen und Extraktionen des Rückstandes mit Wasser beruhenden Methode ist eine Zerstörung und Umwandlung einzelner Basen ausgeschlossen: mit ihrer Hilfe wird daher auch der Nachweis des Guanins und Carnins gelingen. Die Körper der Xanthinfrac-tion bleiben mit Ausnahme des

leicht löslichen Paraxanthins so vollständig im Rückstande, dass eine Scheidung der in Lösung gehenden Basen der Hypoxanthinfrac-tion glatt gelingt. Da ferner fast alle Basen in Form schwer löslicher Salze isolirt werden, so erlaubt die Methode eine annähernd quantitative Bestimmung derselben, wie es bei einer so zahlreichen Gruppe von Vertretern einer Körperklasse überhaupt erreichbar erscheint.

Methode zur Trennung der Alloxurbasen des Harnes.

Da bei der vorliegenden Untersuchung zunächst noch die Neubauer'sche Methode angewendet war und erst allmählich aus dem Studium des gegebenen Materials das neue Verfahren ermittelt wurde, dürfte eine zusammenhängende Beschreibung desselben in der Form, wie es für die Isolirung der Alloxurbasen des Harnes allgemein anwendbar scheint, zweckmässig sein.

Sind die Alloxurkörper durch ammoniakalische Silberlösung gefällt worden, so wird der gewaschene Niederschlag in einem im siedenden Wasserbade befindlichen Rundkolben durch verdünnte Salzsäure vorsichtig zersetzt, bis die voluminösen Silberverbindungen vollständig verschwunden sind und an deren Stelle sich leicht zu Boden setzendes Chlorsilber entstanden ist. Dann erhitzt man den Kolben über freiem Feuer, gibt die gleiche Menge der vorher verbrauchten Salzsäure hinzu, filtrirt heiss und wäscht den Niederschlag mit stark verdünnter Salzsäure aus. Die Hauptmenge der Harnsäure bleibt bei dem Chlorsilber.

Hat man die Alloxurkörper mit Kupfersulfat und Natriumbisulfid gefällt, so wird der mit heissem Wasser gewaschene Niederschlag gleichfalls im Rundkolben mit Wasser erwärmt, durch Ammoniak schwach alkalisch gemacht, dann mit Salzsäure bis zur stark sauren Reaction versetzt, durch Schwefelwasserstoffgas zerlegt und die Lösung heiss filtrirt. Auch hier bleibt die Hauptmenge der Harnsäure auf dem Filter.

Das salzsaure Filtrat (sei es vom Chlorsilber oder vom Schwefelkupfer) wird durch möglichst wenig Thierkohle entfärbt. Wenn es angeht, unterbleibt die Behandlung mit Kohle besser, da dieselbe beträchtliche Mengen der Basen zurückhält, zu deren

Wiedergewinnung mehrmaliges Auskochen mit verdünnter Salzsäure nöthig ist.

Die Lösung wird nunmehr auf dem Wasserbade möglichst weit eingedampft, zum Schlusse bei niederer Temperatur und unter häufigem Umschwenken der Schale oder besser während Darüberleitens eines kräftigen Luftstromes. Die im syrupösen Rückstande noch reichlich vorhandene Salzsäure wird durch zweimaliges Eindampfen mit Wasser und schliesslich durch Eindampfen mit 96%igem Alkohol der Hauptmenge nach entfernt, bis die Masse grobpulverig geworden ist. Dieselbe wird mit Wasser bei 40° digerirt, nach mehrstündigem Stehen abfiltrirt, mit Wasser salzsäurefrei, dann mit Alkohol und Aether gewaschen. Das Filtrat kann noch einmal eingedampft und in derselben Weise behandelt werden: jedoch bleibt beim Digeriren mit Wasser nur ein geringer Rückstand, der mit dem ersten vereinigt wird.

Der ungelöste Theil besteht aus Xanthin, Heteroxanthin und 1-Methylxanthin: in die wässrige Lösung gehen über: Epiguanin, Adenin, Hypoxanthin und Paraxanthin, sowie eine geringe Menge von Heteroxanthin und 1-Methylxanthin. Das neue Verfahren theilt also das Basengemisch in dieselben beiden Gruppen, welche nach der Neubauer'schen Methode erhalten werden sollen. Es dürfte daher zweckmässig sein, auch hier die von G. Salomon¹⁾ eingeführten Namen: Xanthin- und Hypoxanthinfraction beizubehalten: nur hat man zu berücksichtigen, dass Paraxanthin alsdann zur Hypoxanthinfraction gehört.

a) *Xanthinfraction*: Trennung von Heteroxanthin, Xanthin und 1-Methylxanthin. Das Gemenge der 3 Basen wird in der fünfzehnfachen Menge 3,3%iger, salzsäurefreier Natronlauge heiss gelöst. Innerhalb 24 Stunden scheidet sich das Natriumsalz des Heteroxanthins in reinem Zustande und fast vollständig aus. Je 60 cem. des auf 60° erwärmten Filtrates werden in ein (vorher aufgekochtes) kaltes Gemisch aus 20 cem. concentrirter Salpetersäure und 20 cem. Wasser

1) Diese Zeitschrift. Bd. XVIII. S. 207. Anm.

langsam und unter Umrühren eingetragen. Hierbei wird der Rest der Harnsäure, welcher mit den Alloxurbasen in Lösung gegangen war (vergl. oben), zerstört und innerhalb mehrerer Stunden scheidet sich beim Stehen in der Kälte salpetersaures Xanthin aus. Erweist sich dasselbe unter dem Mikroskope noch nicht als rein, so neutralisirt man je 3 gr. des lufttrocknen Rohproduktes unter wenig Wasser mit Natronlauge, erwärmt, löst das freie Xanthin durch mehr Lauge, verdünnt auf 60 ccm. und behandelt die auf 60° erwärmte Lösung wie oben. Reines salpetersaures Xanthin setzt sich als schweres Krystallpulver in aus Blättchen bestehenden Drusen ab. Zur Darstellung des freien Xanthins wird die ammoniakalische Lösung des Nitrates eingedampft, wobei sich die Base in amorphen Krusten abscheidet. Das 1-Methylxanthin wird aus dem salpetersauren Filtrate vom Xanthinnitrat durch Uebersättigen mit Ammoniak und Eindampfen als atlasglänzende Masse, aus mikroskopischen Blättchen bestehend, erhalten. Der Rest kann durch ammoniakalische Silberlösung oder als Kupferoxydulverbindung gefällt werden.

b) Hypoxanthinfraction: Trennung von Epiguanin, Adenin, Hypoxanthin und Paraxanthin. Die salzsaure, vom Xanthin und seinen Homologen abfiltrirte Lösung scheidet auf Zusatz von Ammoniak in geringem Ueberschuss sofort das Epiguanin in kleinen glänzenden Prismen aus. Das Filtrat wird durch Erhitzen vom Ammoniak befreit und die nicht zu concentrirte Lösung in der Kälte vorsichtig mit 1,1%iger Pikrinsäurelösung in geringem Ueberschuss versetzt und das Adeninpikrat sofort mit einer Saugvorrichtung abfiltrirt. Nachdem das mit Schwefelsäure versetzte Filtrat durch Ausschütteln mit Benzol oder Toluol von überschüssiger Pikrinsäure befreit ist, wird die Gesamtmenge der noch vorhandenen Basen durch ammoniakalische Silberlösung oder durch Kupfersulfat und Bisulfit gefällt, der Niederschlag durch Schwefelwasserstoffgas zersetzt und die wässrige Lösung der Basen eingedampft. Je 3 gr. des trocknen Rückstandes werden in 100 ccm. heisser verdünnter Salpetersäure (90 ccm. Wasser + 10 ccm. conc. Salpetersäure) gelöst.

Beim Erkalten scheidet sich Hypoxanthinnitrat in reinem Zustande aus.

Das Filtrat von diesem Körper enthält neben geringen Mengen Hypoxanthin den Rest von Heteroxanthin und 1-Methylxanthin, sowie das Paraxanthin. Zu ihrer Trennung hat man die beschriebene Methode von Anfang an noch einmal zu wiederholen: dieselbe gestaltet sich jedoch jetzt, nachdem Epiguanin und Adenin vollständig beseitigt sind, wesentlich einfacher. Die Basen werden daher aus dem Filtrate vom salpetersauren Hypoxanthin als Silber- oder Kupferoxydulverbindungen gefällt und aus den Niederschlägen in der üblichen Weise isolirt. Die salzsaure Lösung derselben wird eingedampft und der Rückstand, wie oben angegeben, mit möglichst wenig kaltem Wasser extrahirt. Ungelöst bleiben Heteroxanthin und 1-Methylxanthin, welche durch 3,3%ige Natronlauge getrennt werden, das Filtrat enthält Hypoxanthin und Paraxanthin. Aus dieser Flüssigkeit werden die Basen, um sie salzsäurefrei zu erhalten, wieder in Form ihrer Silber- und Kupferoxydulverbindungen niedergeschlagen, isolirt und der Rückstand ihrer wässerigen Lösung aus wenig verdünnter Salpetersäure (90 cem. Wasser + 10 cem. conc. Salpetersäure) umkrystallisirt. Salpetersaures Hypoxanthin scheidet sich aus, das Paraxanthin kann aus der Mutterlauge als Natriumsalz oder als freie Base gewonnen werden.

Die beschriebene Methode, welche in unserem Falle zu einer sicheren und glatten Trennung der einzelnen Basen geführt hat, bedarf selbstverständlich einer Erweiterung und Modification, falls Guanin und Carnin sich späterhin als Harnbestandtheile erweisen sollten. An welcher Stelle des Trennungsganges Carnin einzufügen ist, darüber fehlt bei der wenig bekannten Base jede Andeutung. Guanin, dessen salzsaures Salz nur zum Theil durch Wasser dissociirt wird, wie Versuche gezeigt haben, wird aller Wahrscheinlichkeit nach in der Xanthin- und Hypoxanthinfrac-tion gefunden werden: aus beiden jedoch kann die Isolirung desselben nicht schwierig sein. Die Xanthinfrac-tion wird, mit Ammoniak behandelt, das Guanin ungelöst zurücklassen: in der Hypoxanthinfrac-tion wird

es gleichzeitig mit Epiguanin durch Ammoniak ausgeschieden und kann von letzterem durch Behandeln mit heissem Wasser oder heissem verdünnten Ammoniak getrennt werden.

Auch bezüglich des Paraxanthins erscheinen uns einige Bemerkungen erforderlich: es wäre möglich, dass die Anwesenheit grösserer Mengen dieser Base, welche im vorliegenden Falle der Hauptmenge nach durch das Neubauer'sche Verfahren aus der Hypoxanthinfrac-tion entfernt war, den Gang unserer Methode störend beeinflussen könnte. Sicherlich wird der Körper bei seiner Leichtlöslichkeit in Wasser auch in diesem Falle vollständig in die Hypoxanthinfrac-tion übergehen und die Isolirung des schwer löslichen Epiguanins und Adeninpikrates nicht hindern. Ob weiterhin aber das Hypoxanthin, wie oben vorgeschrieben, als Nitrat gefällt werden kann oder vorerst das Paraxanthin, gemeinsam mit dem Reste des Heteroxanthins, als Natriumverbindung abzuscheiden ist, wird zweckmässig in jedem Falle durch Vorversuche zu ermitteln sein.

Unter den erhaltenen Resultaten sind die Mengenverhältnisse der Basen besonders auffallend. Nach der bisher allgemein gültigen Ansicht sollten die mit dem Harn ausgeschiedenen Alloxurbasen den Rest der aus dem Zerfalle der Nucleine stammenden Nucleinbasen bilden, deren Hauptmenge im Organismus entweder zu Harnsäure oxydirt oder in Stoffwechselprodukte von niederem Moleküle gespalten wird; hiernach dürften sich im Harn auch nur die vier Nucleinbasen, Adenin, Hypoxanthin, Guanin und Xanthin, finden. Nun zeigt sich aber, dass Paraxanthin und Heteroxanthin, welche bisher nur als untergeordnete Begleiter der genannten Basen angesehen wurden, sowie 1-Methylxanthin — alle 3 methyilirte Xanthine — in unserem Falle gerade die Hauptmenge der Alloxurbasen ausmachen. Hierdurch gewinnen die Untersuchungen von M. Albanese,¹⁾ von St. Bondzynski und R. Gottlieb,²⁾ welche die Entstehung des Heteroxanthins im Organismus erklären,

¹⁾ Arch. f. experim. Pathol. und Pharm. Bd. XXXV. S. 449.—466.

²⁾ Ibid. Bd. XXXVI, S. 45—55; Ber. d. d. chem. Ges. Bd. XXVIII, S. 1113—1118.

ein erhöhtes Interesse. Albanese erhielt nach Verfütterung von Caffein beim Hunde, Bondzynski und Gottlieb nach Eingabe von Theobromin beim Menschen, Hunde und Kaninchen ein Monomethylxanthin, welches identisch mit Heteroxanthin war. Die beiden letzteren Forscher sprechen daher die Vermuthung aus, dass auch das normal im menschlichen Harn vorkommende Heteroxanthin aus höher methylyrten Xanthinen der Pflanzennahrung stamme.

Die Umwandlung des Theobromins im Thierkörper wird durch folgende, von E. Fischer¹⁾ angestellte Betrachtung verständlich: «Die Bildung des Heteroxanthins aus dem Theobromin bei seinem Durchgang durch den thierischen Organismus entspricht vollkommen dem Verlaufe der Synthese des Heteroxanthins aus Theobromin. In beiden Fällen wird das gleiche Methyl des Theobromins abgespalten. Da ferner in dem Paraxanthin dieses Methyl fehlt, so halte ich es für wahrscheinlich, dass jenes im Organismus aus dem Caffein der Genussmittel in der gleichen Art entsteht wie Heteroxanthin aus Theobromin.» Hiermit ist eine einfache Erklärung für das Auftreten von Paraxanthin und Heteroxanthin im menschlichen Harn gegeben: beide entstehen aus den um ein Methyl reicheren, methylyrten Xanthinen, dem Caffein resp. Theobromin, durch Entfernung ein und derselben, in 3-Stellung befindlichen Methylgruppe, welche gegen chemische Agentien, wie gegen die Wirkungen des Organismus am wenigsten beständig ist. Die Beziehungen zwischen den vier Körpern werden klarer, wenn man sich die von E. Fischer aufgestellten Constitutionsformeln vergegenwärtigt: doch genügt es, die aus der E. Fischer'schen Nomenclatur abgeleiteten Namen anzuführen.

1,3,7-Trimethylxanthin (Caffein) gibt 1,7-Dimethylxanthin (Paraxanthin).
3,7-Dimethylxanthin (Theobromin) gibt 7-Monomethylxanthin (Heteroxanthin).

Im Einklange mit dieser Theorie über die Herkunft der methylyrten Xanthine steht die Thatsache, dass bisher in 3-Stellung methylyrte Xanthine, wie Theophyllin (1,3-Dimethylxanthin) und 3-Methylxanthin, in Harn nicht gefunden sind und nach unseren

¹⁾ Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. XXX, S. 2405.

Untersuchungen auch kaum vorkommen dürften. Auf den letzten Körper haben wir besonders unser Augenmerk gerichtet: er müsste sich nach dem Gange unserer Methode neben dem 1-Methylxanthin finden. Dasselbe war aber, wie das Verhalten gegen Barytwasser beweist (S. 361), vollständig frei vom isomeren Körper.

Auch das Auftreten von 1-Methylxanthin unter den Basen des Harnes lässt sich aus der obigen Theorie erklären: es entsteht aus dem 1,3-Dimethylxanthin, Theophyllin, welches von A. Kossel im Theeextracte entdeckt ist, unter Abspaltung der labilen 3-Methylgruppe. Ob 1-Methylxanthin auch aus dem Paraxanthin (1,7-Dimethylxanthin) durch Entfernung der 7-Methylgruppe entstehen kann, ob ferner letzteres auch als Material für die Bildung des Heteroxanthins angesehen werden kann, ob endlich ein Abbau der Homologen des Xanthins bis zu diesem Körper selbst stattfindet, darüber müssen weitere Untersuchungen Aufschluss geben.

Jedenfalls erscheint es auf Grund der bisherigen Ergebnisse als zweifellos, dass die methylierten Xanthine des menschlichen Harnes, also in unserem Falle die Hauptmenge der Basen, ihren Ursprung in dem Gehalte der Genussmittel (ev. Nahrungsmittel), an Caffein, Theobromin und Theophyllin haben.

Weitere Beweise für diese Ansicht können in zweierlei Weise erbracht werden. Da Homologe des Xanthins bisher nur im Thee und Kaffee gefunden sind, so müssen bei Enthaltung von diesen Genussmitteln auch die methylierten Xanthine im Harn verschwinden. Zweitens muss man nach Verfütterung der genannten drei Basen dieselben Xanthinderivate finden, welche im Harn vorkommen.

Das Ueberwiegen von Körpern unter den Alloxurbasen des Harnes, welche mit dem Zerfall der Nucleine des Organismus nichts zu thun haben und deren Menge abhängig ist von der, nicht nur bei verschiedenen Personen, sondern auch bei demselben Individuum wechselnden Einnahme von Genussmitteln, gibt eine ungezwungene Erklärung für die Beobachtung, dass das Verhältniss von Harnsäure-Stickstoff zu Alloxurbasen-Stickstoff nach den bisherigen Untersuchungen innerhalb weiter

Grenzen schwankende Werthe zeigt. Nach Kenntniss der Ursache darf man erwarten, durch neue Versuchsreihen, welche unter geeigneten Bedingungen — Enthaltung von Kaffee- und Theegenuss — anzustellen sind, für die normal mit dem menschlichen Harn ausgeschiedenen Alloxurbasen annähernd constante Werthe zu finden, welchen die erhoffte klinische Bedeutung zuzusprechen ist. Alsdann wird es erst möglich sein, in pathologischen Fällen eine mit dem Zerfall der Nucleinsubstanzen Hand in Hand gehende Vermehrung der Alloxurbasen festzustellen, eine Vermehrung, welche sich selbstverständlich nur auf die vier Nucleinbasen erstrecken kann.