

Die Xanthinkörper der Nebennieren.

Von

Johann Okerblom.

Aus dem Laboratorium von Prof. Nencki in Petersburg.

(Der Redaction zugegangen am 25. Juni 1899.)

Durch die Entdeckung von N. Cybulski und G. Olivier, dass der brenzcatenähnliche Körper der Nebennieren blutdruck-erhöhende Eigenschaften hat, ist das Interesse der physiologischen Chemiker für dieses Organ ein sehr reges geworden. Prof. Nencki, der mit der Darstellung dieser wirksamen Substanz beschäftigt war, machte die Beobachtung, dass beim Verdunsten wässriger Extracte der Nebennieren im Vacuum sich ein fein krystallinischer Niederschlag abscheidet, dessen Untersuchung ergab, dass er wesentlich aus Xanthin und den ihm verwandten Körpern besteht. Auf Wunsch von Prof. Nencki habe ich die genauere Untersuchung der Xanthinkörper der Nebennieren unternommen, und die bis jetzt erhaltenen Resultate bilden den Gegenstand der vorliegenden kurzen Mittheilung.

Gut von Fett und Bindegewebe befreite Nebennieren vom Rind wurden in einer Wurstmaschine klein zerhackt, in Portionen von 300—500 g mit dem fünffachen Gewicht Wasser übergossen, zur Verhütung der Fäulniss auf je 1 Liter Wasser mit 5 cem. Chloroform versetzt und 2 Tage lang bei Bruttemperatur stehen gelassen. Hierauf wurde die Flüssigkeit, um die Eiweissstoffe zu coaguliren, auf dem Wasserbade erwärmt und mit verdünnter Essigsäure bis zu schwach saurer Reaction angesäuert. Das klare Filtrat wurde im Vacuum bei 35—40° auf ein kleines Volumen verdunstet, worauf sich an den Wänden

und am Boden des Gefässes ein weisslich-graues Pulver ab-
geschieden hat. Dieses Pulver, abfiltrirt und mit Wasser nach-
gewaschen, bestand, unter dem Mikroskope betrachtet, aus un-
deutlich krystallinischen Körnchen, die im polarisirten Lichte
betrachtet doppelbrechend waren. Qualitative Proben ergaben
darin keinen Phosphor oder Schwefel, wohl aber einen hohen
Stickstoffgehalt. Eine Probe der Substanz, auf Porzellandeckel
mit Salpetersäure verdunstet, hinterliess einen gelben Fleck,
der durch Natronlauge schön roth wurde. Da dadurch die
Anwesenheit von Xanthin oder Körpern der Xanthin-Gruppe an-
zunehmen war, so wurde die Untersuchung des Pulvers nach
der kürzlich von M. Krüger und G. Salomon¹⁾ für die Xan-
thinkörper ausgearbeiteten Methode ausgeführt.

8 g der Substanz — so viel betrug die Ausbeute aus
7,8 Kilo frischer Nebennieren — wurden in verdünnter Salz-
säure aufgelöst. Da kein Rückstand hinterblieb, so war in
dem Rohprodukt keine nennenswerthe Menge von Harnsäure
vorhanden. Die Lösung wurde eingedampft und der syrupöse
Rückstand zur Entfernung noch vorhandener Salzsäure mit
96°'igem Alkohol vermischt und von Neuem verdunstet, wobei
die Masse grobpulverig wurde. Dieselbe wurde mit Wasser
bei 40° digerirt, nach mehrstündigem Stehen abfiltrirt, mit
Wasser salzsäurefrei, dann mit Alkohol und Aether gewaschen.
Der Rückstand bei 120° getrocknet wog 5,5 g. Hierbei konnten
in dem ungelösten Theile Xanthin, Heteroxanthin und
l-Methylxanthin; in der wässerigen Lösung: Epiguanin,
Adenin, Hypoxanthin und Paraxanthin, sowie eine ge-
ringe Menge von Heteroxanthin und l-Methylxanthin enthalten
sein.

Xanthinfraction — 5,5 g. Das Gemenge wurde in
3,3°'iger chlorfreier Natronlauge gelöst und 24 Stunden
lang stehen gelassen, da aber keine Ausscheidung erfolgte, so
konnte Heteroxanthin nicht darin enthalten sein. Die Lösung
wurde auf 60° erwärmt und in ein kaltes Gemisch von 2,5 cem
concentrirter Salpetersäure und 25 cem. Wasser langsam und

¹⁾ Zeitschrift für physiol. Chem. 26. 354.

unter Umrühren eingetragen. Beim Stehen in der Kälte schied sich salpetersaures Xanthin aus. Zur Darstellung des freien Xanthins wurde die ammoniakalische Lösung des Nitrates mit Essigsäure gefällt und der Niederschlag mit Wasser, dann mit Alkohol und Aether gewaschen. Ich erhielt 3,56 g der bei 120° getrockneten Substanz, deren Analyse folgende Zahlen

ergab: 0,2122 g gaben 0,3071 g CO₂ und 0,0505 g H₂O. —
0,1160 g der Substanz gaben 36,6 cem. N-Gas bei 750 mm. Bar. und 13,4° C. —

Berechnet für C₅ H₄ N₄ O₂

C 39,47 %

H 2,63 ..

N 36,84 ..

Gefunden

C 39,46 %

H 2,69 ..

N 36,86 ..

Das I-Methylxanthin wurde aus dem salpetersauren Filtrate von Xanthinnitrat durch Uebersättigen mit Ammoniak und Eindampfen der Lösung als atlasglänzende Masse erhalten. Dieselbe wurde in Natronlauge gelöst und die Lösung mit verdünnter, warmer Salzsäure schwach angesäuert. Das I-Methylxanthin fiel als schweres Krystallpulver nieder. Die Menge desselben betrug nach dem Auswaschen mit Wasser, Alkohol und Aether und nach dem Trocknen bei 120° 0,5 g. Die Analyse ergab: 0,1875 g der Substanz gaben 0,2955 g CO₂ und 0,0656 g H₂O.

Berechnet für C₆ H₆ N₄ O₂

C 43,37 %

H 3,61 ..

Gefunden

C 42,98 %

H 3,89 ..

Hypoxanthinfraction. Die vom Xanthin und I-Methylxanthin abfiltrirte salzsaure Lösung wurde heiss mit Ammoniak übersättigt und von ausgeschiedenem Eisenhydroxyd abfiltrirt. Beim Erkalten schieden sich in sehr geringer Menge kleine glänzende Prismen aus, die beim Eindampfen mit concentrirter Salpetersäure einen gelben Fleck hinterliessen, der mit Natronlauge orangeroth und bei weiterem Erwärmen violett wurde. Diese Reaction, sowie das Aussehen der Krystalle unter dem Mikroskop sprechen dafür, dass es Epiguanin war.

Das Filtrat wurde durch Kochen vom Ammoniak befreit und die nicht zu concentrirte Lösung in der Kälte mit Pikrin-

säurelösung in geringem Ueberschusse versetzt. Das in geringer Menge ausgeschiedene Pikrat wurde abfiltrirt, mit kaltem Wasser gewaschen und im Exsiccator getrocknet. Die Menge des trockenen Salzes betrug 0,08 g. Im Capillarrohr erhitzt schmolzen die Krystalle bei $272—273^{\circ}$ unter Zersetzung. Allem Anscheine nach lag also Adeninpikrat vor.

Das mit Schwefelsäure angesäuerte Filtrat wurde durch Ausschütteln mit Benzol von überschüssiger Pikrinsäure befreit und die Gesammtmenge der noch vorhandenen Basen durch ammoniakalische Silberlösung gefällt. Der Niederschlag wurde durch Schwefelwasserstoff zersetzt und die wässrige Lösung der Basen eingedampft. Der Rückstand, der 1,5 g wog, wurde in 50 cem. heisser, verdünnter Salpetersäure gelöst. Beim Erkalten schieden sich wetzsteinförmige Krystalle aus, die mit verdünnter Salpetersäure, dann mit Alkohol und Aether gewaschen wurden. Bei 120° getrocknet wogen die Krystalle 0,2 g und schienen aus reinem Hypoxantinitrat zu bestehen. Leider ist mir ein Theil der Substanz bei der Analyse verloren gegangen, so dass ich nur mit einem geringen Rest eine Stickstoffbestimmung ausführen konnte. 0,0625 g des Nitrates gaben 19 cem. N-Gas bei 17° C. und 754 mm Bar., entsprechend $35,17\%$ N. Die Formel: $C_5H_4N_4O \cdot NO_3H$ verlangt $35,23\%$ N.

Nach der Methode von M. Krüger und G. Salomon konnte ich daher aus 8 g der Xanthinbasen: Xanthin, 1-Methylxanthin und Hypoxanthin in reinem Zustande isoliren und mit grosser Wahrscheinlichkeit das Vorhandensein von Epiguanin und Adenin nachweisen. Da die Mutterlauge des Xanthinnitrates beim Uebersättigen mit Ammoniak keinen Rückstand hinterliess, so war darin auch kein Guanin vorhanden.

Ueber die uns hier interessirenden Substanzen der Nebenniere habe ich nur die einzige in Streckers Laboratorium ausgeführte Untersuchung aus dem Jahre 1867 von Dr. F. Holm¹⁾ aus Petersburg finden können. Um etwa vorhandene Harnsäure und Xanthin vollständig dem Gewebe zu entziehen, hat

¹⁾ Journ. für prakt. Chemie. Jahrgang 1867, S. 150.

Holm nach der Behandlung mit Weingeist noch eine Digestion mit Wasser bei 50° vorgenommen und die erhaltene Flüssigkeit nach einander mit neutralem und basischem Bleiacetat, dann mit Kupferacetat behandelt. — Der basische Bleiniederschlag enthielt keine Harnsäure und lieferte eine reichliche Menge Inosit. Der Kupferniederschlag war frei von Xanthin und enthielt viel Hypoxanthin leicht löslich in verdünnter Salzsäure, beim Verdunsten ein in Nadeln krystallisirendes Salzgebend, das mit Kohle entfärbt und mit Ammoniak zur Trockne verdampft nach dem Ausziehen mit Wasser schwach gelb gefärbtes Hypoxanthin hinterliess. Dieses in verdünnter Salpetersäure gelöst und vorsichtig verdunstet hinterliess einen kaum gelblichen Fleck, der bei stärkerem Erhitzen rein citronengelb und beim Befeuchten und Erwärmen mit Natronlauge prächtig purpurfarben wurde.

Wie aus meiner Untersuchung hervorgeht, besteht, im Gegensatz zu der Angabe Dr. Holms, die Hauptmenge der Xanthinkörper der Nebenniere aus Xanthin. Dann folgen das l-Methylxanthin, das Hypoxanthin, das Epiguanin und das Adenin. Es ist wohl möglich, dass bei Verarbeitung grösserer Quanta dieser Drüse noch mehr hierher gehörige Substanzen aufgefunden werden. Bemerken muss ich, dass, als ich 1.8 Kilo frischer Nebennieren sofort auf gleiche Weise verarbeitete, ich nur 0.5 g der Xanthinbasen, also 3,7 mal weniger, als nach zweitägiger Digestion bei der Bruttemperatur erhalten habe.