

Der Abbau des Theophyllins, 1,3-Dimethylxanthins, im Organismus des Hundes.

Von

M. Krüger und **J. Schmid.**

Aus der medicinischen Klinik der Universität Breslau.

(Der Redaction zugegangen am 26. Juni 1902.)

Die Stoffwechselversuche, welche mit den mehrfach methylirten Xanthinen, dem Trimethylxanthin und den Dimethylxanthinen, bisher angestellt sind, haben in allen Fällen das übereinstimmende Resultat ergeben, dass die genannten Körper beim Passiren des thierischen Organismus wahrscheinlich auf dem Wege der Oxydation einen Theil ihrer Methylgruppen verlieren und somit durch die Thätigkeit der Zellen Umwandlungen ausgeführt werden, welche auf chemischem Wege nur theilweise und dann auch nur mit Hülfe hoher Temperaturen und unter Anwendung der schärfsten Reagentien, wie der Chloride des Phosphors, nachgeahmt werden können.

So entstehen im Thierkörper aus dem Trimethylxanthin, dem Coffein, über die einzelnen Dimethylxanthine als Zwischenprodukte Monomethylxanthine, während aus den Dimethylxanthinen direkt Monomethylxanthine gebildet werden. Bei keinem Versuche aber hat ein Abbau bis zum Xanthin selbst constatirt werden können, eine Behauptung, die von Albanese auf Grund eines völlig ungenügenden Beweises ausgeprochen ist. Albanese¹⁾ hat nach Verabreichung von 0,5 g Coffein an 4 Kaninchen während dreier Tage 0,104 g eines Gemisches von Purinbasen erhalten, in welchem sich ausser den normal mit dem Kaninchenharn ausgeschiedenen Basen die drei, von M. Krüger²⁾ nach Verfütterung von Coffein erhaltenen Körper, Paraxanthin, Heteroxanthin und 1-Methylxanthin, befinden müssen. Sein ganzer Beweis des Vorhandenseins von Xanthin besteht nun darin, dass er

1) Arch. f. exper. Path. u. Pharmak., Bd. 35, S. 459.

2) Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 32, S. 3336.

mit diesem Gemische Farbenreactionen mit Salzsäure und chlorsaurem Kali, sowie mit Salpetersäure erhalten hat.

Die Endprodukte des Abbaues der methyilirten Xanthine, so weit dieselben noch zur Gruppe der Purinkörper gehören, sind demnach die Monomethylxanthine. Diese verlassen, wie der Versuch mit 3-Methylxanthin¹⁾ am Kaninchen beweist, zum Theil unverändert den Organismus, oder sie liefern Abbauprodukte, in denen der Purinkern gesprengt ist.

Als weiteres wesentliches Ergebniss der Fütterungsversuche, welche hauptsächlich mit Theobromin und Caffein an Hunden und Kaninchen, mit Theobromin auch am Menschen angestellt sind, hat sich die auffallende Thatsache ergeben, dass der Abbau ein und derselben Purinbase bei den verschiedenen Thieren in durchaus verschiedener Weise verläuft. So sind die Dimethylxanthine, welche als Zwischenprodukte aus Caffein entstehen, sowie die als Endprodukte resultirenden Monomethylxanthine andere beim Hunde wie beim Kaninchen. Diese Erscheinung ist bedingt durch die geringere oder grössere Widerstandskraft, welche die einzelnen Methylgruppen des Caffeins der oxydirenden Wirkung in den Organismen der genannten Thiere entgegenzusetzen vermögen.

Wenn demnach die Versuche mit derselben Base bei den verschiedenen Thieren auch verschiedene Stoffwechselprodukte liefern, so ist andererseits hervorzuheben, dass ein und derselbe Organismus die verschiedenen, von Xanthin derivirenden Methyl-derivate in gesetzmässiger, an bestimmte Regeln gebundener Weise angreift. Mit grosser Sicherheit können daher aus dem bekannten Abbau eines Xanthinderivates die Umwandlungsprodukte eines anderen gefolgert werden.

Zum leichteren Verständniss der immerhin complicirten, an den Purinkörpern sich vollziehenden Veränderungen mögen die bisher erhaltenen, sowie die aus dem unten beschriebenen Versuche sich ergebenden Resultate an der Hand der von E. Fischer aufgestellten Constitutionsformeln der Xanthinderivate erläutert werden.

¹⁾ Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 32, S. 2680.

Mit Hilfe dieser Bezeichnungsweise sind die aus den Fütterungsversuchen mit Caffein und Theobromin erhaltenen Resultate leicht darzustellen.

Die Nachprüfung der von Albanese, Bodzyński und Gottlieb ausgeführten Versuche mit Theobromin hat M. Krüger und P. Schmidt¹⁾ zu dem Ergebniss geführt, dass Theobromin, 3,7-Dimethylxanthin, bei Kaninchen und Hunden zum Theil unverändert im Harn wiedererscheint, dass andererseits unter Beseitigung je einer Methylgruppe beide zu erwartende Monomethylxanthine, 3- und 7-Methylxanthin, gebildet werden.



Wenn in qualitativer Hinsicht die Abbauprodukte des Theobromins bei Hunden und Kaninchen dieselben sind, so zeigt sich bei Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse ein wesentlicher Unterschied im Verhalten des Theobromins bei beiden Thieren.

Auf 100 g verfüttertes Theobromin waren nämlich erhalten worden:

Beim Hunde:	{	51.35 g Theobromin; 2.895 g 3-Methylxanthin und 0.625 g 7-Methylxanthin.
Beim Kaninchen:	{	16.05 g Theobromin; 14.31 g 7-Methylxanthin und 0.91 g 3-Methylxanthin.

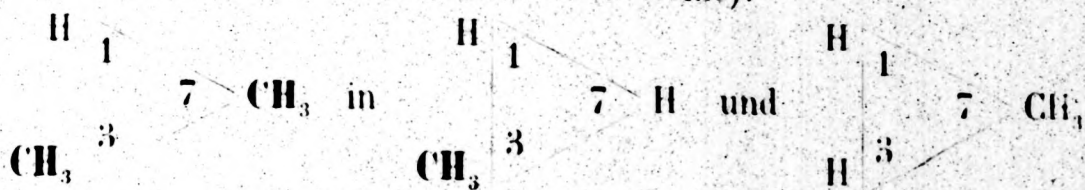
Hiernach scheidet der Hund von den beiden Monomethylxanthinen das 3-Methylxanthin in grösserer Menge aus, während beim Kaninchen das 7-Methylxanthin bedeutend überwiegt und sich hier die Mengenverhältnisse auffallend dem Grenzwerte nähern, wo kein 3-Methylxanthin mehr entstehen würde.

Auch diese Ergebnisse lassen sich in den figürlichen Formeln zum Ausdruck bringen, wenn man in ihnen die Methyl-

¹⁾ Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 32, S. 2677.

gruppen der Ausgangsmaterialien und der in Hauptmenge entstehenden Produkte durch fetten Druck kenntlich macht.

Beim Hunde (I. Reihe):



Beim Kaninchen (II. Reihe):

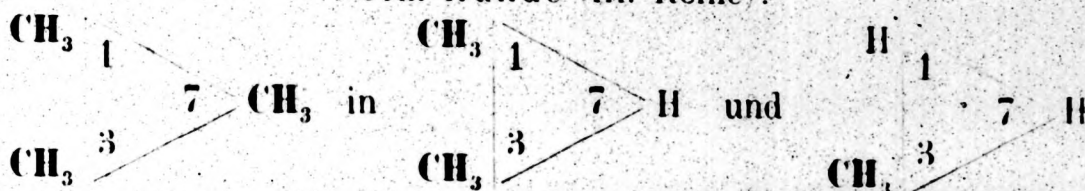


Im Organismus des Hundes zeigt sich also die 3-Methylgruppe beständiger als die 7-Methylgruppe, während umgekehrt die letztere beim Kaninchen ihrer Beseitigung durch Oxydation einen grösseren Widerstand entgegensetzt.

Behalten die beiden Methylgruppen ihre Eigenschaften auch im Coffein bei, in dessen Molekül endlich noch das in 1-Stellung befindliche Wasserstoffatom durch Methyl substituiert ist, oder mit anderen Worten: vollzieht sich der Abbau des Theobromins und Caffeins nach einheitlichen Gesetzen, so lässt sich voraussehen, dass nach Verfütterung von Caffein bei denselben Thieren Körper erhalten werden müssen, welche auch qualitativ verschieden sind. Die ausgeführten Versuche haben die Bestätigung der Vermuthung erbracht.

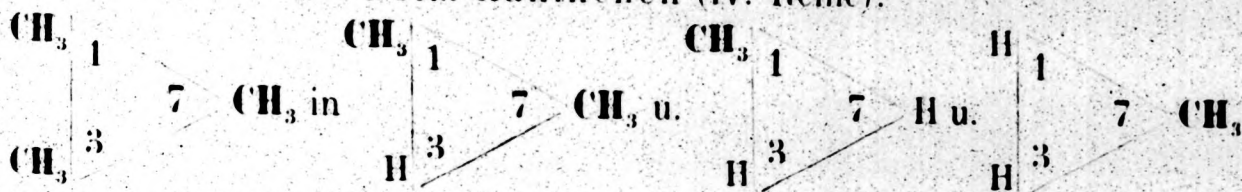
Das Caffein¹⁾ wird beim Hunde in der Hauptrichtung über Theophyllin zum 3-Methylxanthin abgebaut, während beim Kaninchen Paraxanthin, 1- u. 7-Methylxanthin entstehen.

Beim Hunde (III. Reihe):



Caffein in 1,3-Dimethylxanthin und 3-Methylxanthin.

Beim Kaninchen (IV. Reihe):



Coffein in 1,7-Dimethylxanthin, ferner 1-Methylxanthin und 7-Methylxanthin.

1. Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 32, S. 2818 u. 3336.

Ein Vergleich der Formelreihen III mit I und IV mit II zeigt die völlige Analogie im Verhalten des Caffeins und Theobromins bei derselben Thierart.

Wie das Theobromin im Körper des Hundes hauptsächlich seine 7-Methylgruppe einbüsst, so gilt dasselbe auch für Caffein unter den gleichen Bedingungen; es entstehen demnach:

aus 3,7-Dimethylxanthin das 3-Methylxanthin

(siehe I. Reihe)

und aus 1,3,7-Trimethylxanthin das 1,3-Dimethylxanthin

(siehe III. Reihe).

Umgekehrt war im Organismus des Kaninchens die 7-Methylgruppe die beständigere, während die 3-Methylgruppe fast vollständig verschwand. Auch beim Caffein fällt letztere zuerst der Oxydation anheim, und so entstehen:

aus 3,7-Dimethylxanthin das 7-Methylxanthin

(siehe II. Reihe)

und aus 1,3,7-Trimethylxanthin das 1,7-Dimethylxanthin

(siehe IV. Reihe).

Auf Grund dieser auffallenden Uebereinstimmung im Abbau der methylirten Xanthine, wie sie die Versuche mit Theobromin und Caffein ergeben haben, darf man mit Sicherheit erwarten, dass auch die übrigen Methylderivate, das Theophyllin und das Paraxanthin, bei ihrer Umwandlung im Thierkörper denselben Gesetzen unterworfen sein werden.

Wenn das der Fall ist, so können, da die Stellung der Methylgruppen in diesen beiden Methylderivaten ja bekannt ist, auch die nach ihrer Verfütterung im Harne auftretenden Produkte leicht abgeleitet werden.

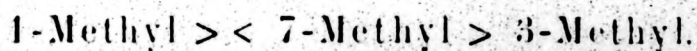
Hierzu ist aber nöthig, dass wir auch über das Verhalten der 1-Methylgruppe, welche bisher noch nicht erwähnt ist, und welche sowohl im Paraxanthin, wie im Theophyllin enthalten ist, Kenntniss haben. Diese ist uns aber gleichfalls durch die Caffeinversuche gegeben, welche zeigen, dass in Uebereinstimmung mit der 3- und der 7-Methylgruppe auch die 1-Methylgruppe bei Hunden und Kaninchen einen verschiedenen Grad der Beständigkeit besitzt.

Beim Hunde ist die Reihenfolge, in welcher die einzelnen Methylgruppen der Oxydation unterliegen, folgende: 7-Methyl,

dann 1-Methyl und zuletzt 3-Methyl. Drücken wir den Grad in der Beständigkeit der Methylgruppen durch die algebraischen Zeichen $>$ grösser und $<$ kleiner aus, so ist beim Hunde:



Beim Kaninchen dagegen stellen 1-Methylxanthin, gemeinsam mit 7-Methylxanthin, die Endprodukte des Caffeins dar, während die 3-Methylgruppe verschwunden ist. Ob 1-Methyl oder 7-Methyl beständiger ist, darüber lässt sich nur nach genauerer Kenntniss der Mengenverhältnisse von 1-Methylxanthin zum 7-Methylxanthin urtheilen. Vermuthen können wir, dass beide gleich widerstandsfähig sein werden. Dann ist beim Kaninchen:



Hiernach muss der Abbau des Theophyllins und Paraxanthins folgendermaassen verlaufen:

Das in 1- und 3-Stellung methylierte Theophyllin muss beim Hunde der Hauptmenge nach 3-Methylxanthin, in geringerer Menge 1-Methylxanthin liefern. Uebrigens ist zu bemerken, dass mit dem Caffeinversuche am Hunde ja gleichzeitig auch der Theophyllinversuch ausgeführt ist. Denn da Theophyllin als Zwischenprodukt beim Abbau des Caffeins (siehe III. Reihe) erhalten ist, so ist klar, dass die nach Caffeinfütterung erhaltenen Endprodukte des Stoffwechsels gleichzeitig auch die Stoffwechselprodukte des Theophyllins darstellen. Nun ist aber bei diesem Versuche von den Monomethylxanthinen nur 3-Methylxanthin, kein 1-Methylxanthin erhalten worden. Dies scheint im Widerspruch zu stehen mit der oben gemachten Voraussage, nach der beide Körper erhalten werden müssen.

Dazu ist einmal zu bemerken, dass hier und in den weiteren Fällen, wenn von den voraussichtlichen Mengenverhältnissen der Abbauprodukte die Rede ist, stets auch die Grenzfälle mit eingeschlossen sind, bei denen die Menge des einen oder anderen Produktes dem Werthe Null sich nähert oder ihn erreicht. Denn ob in einem speciellen Falle die eine von zwei Methylgruppen so labil ist, dass es zur Entstehung eines durch sie charakterisirten Produktes gar nicht kommt, kann

selbstverständlich nur durch den Versuch selbst constatirt werden.

Ferner: Wenn bei dem Caffeinversuche am Hunde 1-Methylxanthin nicht gefunden ist, so ist damit nicht gesagt, dass es überhaupt nicht entsteht. Denn man darf nicht vergessen, dass in diesem Falle die Monomethylxanthine erst die Abbauprodukte zweiten Grades sind, dass mithin das eine von ihnen wohl in so geringer Menge entstehen kann, wie es durch die zu seinem Nachweis angegebenen Methoden nicht mehr ermittelt werden kann. Geht man aber vom Theophyllin selbst als Versuchsmaterial aus, so erhält man dieselben Monomethylxanthine auf direktem Wege und darf sie daher in besserer Ausbeute erwarten.

Beim Kaninchen wird aus dem Theophyllin der Hauptmenge nach 1-Methylxanthin entstehen müssen, da die 3-Methylgruppe zuerst oxydirt wird.

Der Paraxanthinversuch am Kaninchen ist bereits einmal von M. Krüger und P. Schmidt¹⁾ ausgeführt worden, jedoch nur in der Absicht, das 1-Methylxanthin als Abbauprodukt nachzuweisen.

Da das Paraxanthin als Zwischenprodukt des Abbaues von Caffein beim Kaninchen auftritt, so gilt hier dasselbe, was oben beim Theophyllin gesagt wurde: es sind demnach die Endprodukte, welche nach Eingabe von Caffein erhalten sind, auch gleichzeitig als die Umwandlungsprodukte des Paraxanthins anzusehen. Ob 1- oder 7-Methylxanthin in vorherrschender Menge entstehen wird, darüber kann in diesem Falle nur der Versuch entscheiden. Doch lässt die Thatsache, dass beide als Abbauprodukte zweiten Grades nach Caffeinfütterung nachgewiesen werden konnten, vermuthen, dass die Unterschiede in der Beständigkeit der 1- und 7-Methylgruppe nicht erheblich sein werden.

Beim Hunde dagegen muss sich nach Verabreichung von Paraxanthin wieder das Vorherrschen des einen Abbauproduktes und zwar des 1-Methylxanthins bemerkbar machen: denn hier wird ja die 7-Methylgruppe vor der 1-Methylgruppe oxydirt.

¹⁾ Ber. d. d. chem. Ges. Bd. 32, 2680.

Wir haben zunächst den Versuch mit Theophyllin am Hunde ausgeführt und das Schicksal der Base der Voraussage entsprechend gefunden. Es besteht kein Zweifel, dass auch die übrigen Versuche in dem vermutheten Sinne ausfallen werden.

Alsdann wäre in der physiologisch-chemischen Litteratur ein schönes Beispiel dafür zu verzeichnen, dass eine ganze Gruppe chemischer Körper bei verschiedenen Thieren in durchaus verschiedener, bei jeder Thierart aber in einer bestimmten, an einfache Gesetze gebundenen Richtung dem Abbau unterworfen ist unter Bildung von Produkten, wie sie in so zahlreicher Menge nach Eingabe irgend einer anderen Verbindung kaum gefunden sein dürften.

Experimenteller Theil.

15,9 g Theophyllinnatrium wurden in täglichen Mengen von 0,3 g bis ansteigend auf 1,5 g an einen grossen Hund verfüttert. Der Harn wurde täglich nach dem Verdünnen auf das 3—4fache Volumen und nach Zusatz von etwa 20 g Natriumacetat siedend heiss mit Kupfersulfat und Natriumbisulfatlösung gefällt. Die gesammelten Kupferoxydniederschläge wurden nach gutem Auswaschen mit heissem Wasser durch Schwefelwasserstoff zerlegt. Nachdem das Filtrat vom Schwefelkupfer auf etwa 200 ccm. eingedampft war, wurde es in einem Rundkolben zum Sieden erhitzt, mit einer heissen klaren Lösung von 15 g Barythydrat in Wasser versetzt und noch mehrere Minuten im Sieden erhalten.

Der entstandene Niederschlag von 3-Methylxanthinbaryum wurde nach 12stündigem Stehen abfiltrirt, mit Barytwasser ausgewaschen und dann durch Ammoncarbonat zersetzt. Aus dem alkalischen Filtrate schieden sich sehr bald die schönen Prismen des 3-Methylxanthins aus. Der Trockenrückstand wurde in Salzsäure gelöst und die heisse Lösung mit Natronlauge bis zur schwach sauren Reaction abgestumpft. Nach dem Erkalten hatten sich 1,83 g des freien 3-Methylxanthins in glänzenden Prismen abgeschieden: die Mutterlauge und das Waschwasser zusammen enthielten nach einer Basenbestimmung

mit Hilfe der Kupferoxydulmethode noch 0.158 g, so dass im Ganzen 1.988 g 3-Methylxanthin erhalten wurden.

0.1278 g Substanz, bei 110° getrocknet, verbrauchten nach Kjeldahl 30.50 cem. $\frac{1}{10}$ N.-Säure.

$C_7H_8N_4O_2$ Berechnet: 33.73% N.

Gefunden: 33.41% N.

Das Filtrat von 3-Methylxanthinbaryum wurde mit Ammoncarbonat zur Ausfällung des Baryts versetzt und nach dem Beseitigen des Niederschlages mit Kupfersulfat und Bisulfit behandelt. Die in Freiheit gesetzten und durch Eindampfen ihrer Lösung erhaltenen Basen wurden nunmehr in etwa 40 cem. Wasser gelöst und mit soviel starker Natronlauge versetzt, dass die Lösung 10% an Aetznatron enthielt. Nach 24-stündigem Stehen im Eisschrank wurde der inzwischen ausgeschiedene feinkrystallinische und kaum glänzende Niederschlag von Theophyllinnatrium über Asbest abgesaugt und mit wenig 10% iger Natronlauge ausgewaschen.

Das Theophyllinnatrium wurde dann in Wasser gelöst. Eine Basenbestimmung in einem gemessenen Theile der Lösung ergab, dass im Ganzen 1.85 g wasserfreies Theophyllin vorhanden war.

Zur Darstellung der freien Base wurde die Lösung des Natriumsalzes mit Essigsäure übersäuert und bis zur Krystallisation eingeeengt. Das Theophyllin schied sich in centimeterlangen, glasglänzenden Prismen ab, in einer Menge von 1.665 g.

0.1395 g Substanz verloren, bei 120° getrocknet, 0.0130 g und verbrauchten nach Kjeldahl 28.30 cem. $\frac{1}{10}$ N.-Säure.

$C_7H_8N_4O_2 + H_2O$ Berechnet: 9.09% H_2O ; 28.28% N.

Gefunden: 9.32% H_2O ; 28.40% N.

Das Filtrat vom Theophyllinnatrium enthielt nach einer Basenbestimmung nur noch 0.379 g Basen auf wasserfreies Theophyllin berechnet. Nachdem dieselben wiederum durch Kupfersulfat und Bisulfit gefällt und aus dem Niederschlage in der üblichen Weise isolirt waren, zeigte es sich, dass die Hauptmenge der Substanz noch aus Theophyllin bestand. Dasselbe wurde durch nochmaliges Behandeln mit 10 cem. 10% iger Natronlauge in der beschriebenen Weise abgetrennt:

es betrug noch 0,28 g, sodass in Summa 2,13 g wasserfreies Theophyllin wiedererhalten wurde.

Zum Nachweis und zur Isolirung etwa vorhandenen 1-Methylxanthins in dem nunmehr verbleibenden Rest der Basen wurde das alkalische Filtrat vom zweiten Theophyllinnatriumniederschlage nach dem Neutralisiren mit Salpetersäure durch weiteren Zusatz von Salpetersäure auf einen Säuregrad gebracht, der einer Salpetersäure vom specifischen Gewicht 1,1 entspricht. Festes Silbernitrat erzeugte einen Niederschlag, der durch Erwärmen der Flüssigkeit gelöst wurde.

Der nach dem Erkalten erhaltene, aus feinen Nadeln bestehende Niederschlag der Silbernitratdoppelverbindung wurde mit kaltem Wasser gewaschen und durch Schwefelwasserstoff zersetzt. Das Filtrat wurde nach Zusatz von wenigen Tropfen Ammoniak eingedampft und der Rückstand aus wenig Essigsäure enthaltendem Wasser umzukrystallisiren versucht: die Menge desselben betrug nur 70 mg. Da selbst nach mehreren Tagen keine Ausscheidung erfolgte, so konnte 1-Methylxanthin und Xanthin nicht vorliegen. Die Lösung wurde daher wieder zur Trockene verdampft und der Rückstand mit 10% iger Salpetersäure behandelt.

Die ausgeschiedenen wetzsteinförmigen Krystalle deuteten auf Hypoxanthin hin. Sie wurden nach dem Entfernen der Mutterlauge durch Aufsaugen mit Hilfe von Streifen Filtrirpapier und nach dem Trocknen mit demselben Mittel in wenigen Cubikcentimetern gesättigter Pikrinsäurelösung gelöst und erschienen sehr bald in den tafelförmigen Krystallen des pikrinsauren Hypoxanthins wieder.

Selbstverständlich ist dieses Hypoxanthin als normales Ausscheidungsprodukt des Hundeharnes anzusehen und nicht etwa mit dem verfütterten Theophyllin in Zusammenhang zu bringen.

1-Methylxanthin ist demnach bei unserem Versuche, in welchem 15,9 g Theophyllinnatrium dem Versuchsthiere verabreicht waren, nicht in bestimmbarer Menge entstanden. Besonders möchten wir noch, gegenüber der Albanese'schen Behauptung von dem Abbau der methylylirten Xanthine bis zu

ihrer Muttersubstanz, die Thatsache betonen, dass Xanthin auch hier wieder unter den Stoffwechselprodukten fehlte.

Als Resultat der vorliegenden Untersuchung hat sich ergeben, dass nach Verabreichung von 15,9 g Theophyllinnatrium an einen Hund mit dem Harn desselben 2,13 g unverändertes Theophyllin und 1,99 g 3-Methylxanthin, aber kein 1-Methylxanthin ausgeschieden ist.

Da Theophyllinnatrium seinem Natriumgehalte nach zwei Moleküle Wasser enthält, so entsprechen 15,9 g desselben 12 g wasserfreien Theophyllins. Von diesen haben 17,7% den Organismus unverändert wieder verlassen und 17,9% sind in 3-Methylxanthin verwandelt worden.

1-Methylxanthin ist mithin nicht gefunden worden. Es ist nicht ausgeschlossen, im Gegentheil sogar sehr wahrscheinlich, dass bei wesentlicher Vergrößerung des Ausgangsmaterials dasselbe in fassbarer Menge erhalten wird. Jedenfalls stellt der Theophyllinversuch am Hunde einen jener in der Einleitung erwähnten Grenzfälle dar, in welchen der Abbau der methylylirten Xanthine durch das auffallende Hervortreten eines Produktes gekennzeichnet ist, während die Menge eines anderen, gleichfalls möglichen Körpers so gering ist, dass sie praktisch als Null angesehen werden kann.
