

Der Abbau methylierter Xanthine.

Von

Julius Schmid.

(Aus der medizinischen Poliklinik zu Breslau.)

(Der Redaktion zugegangen am 2. Juni 1910.)

Der Abbau der mehrfach methylierten Xanthine im Organismus ist deshalb von Interesse, weil diese einen wesentlichen Bestandteil bestimmter Genußmittel (Kaffee, Tee, Kakao) bilden und weil die Hauptmenge der im Harn unter gewöhnlicher Ernährung ausgeschiedenen Purinbasen Methylxanthine sind, welche diesen mehrfach methylierten Xanthinen der Nahrung entstammen.

Die Produkte des Abbaus dieser Körper (Coffein, Theobromin und Theophyllin) sind uns nur zum Teil bekannt. Stoffwechselversuche von Bondzynski und Gottlieb,¹⁾ Burian und Schur,²⁾ Krüger und seinen Schülern³⁾ haben ergeben, daß ein Teil (20—50%) des verfütterten Körpers als Monomethylxanthin (bezw. nach Verfütterung von Coffein teilweise noch als intermediäres Dimethylxanthin) im Harn erscheint, ein weiterer Teil unter Aufspaltung des Purinrings zu noch nicht bekannten Endprodukten oxydiert wird; endlich verläßt noch eine Restmenge den Organismus unverändert.

Für die im Abbau resultierenden Di- und Monomethylxanthine haben sich beim Menschen und bei den einzelnen Tierarten bemerkenswerte Unterschiede ergeben, insofern die Widerstandsfähigkeit der einzelnen Methylgruppen im Molekül bei ihnen eine durchaus verschiedene, spezifische ist.⁴⁾ Auf

¹⁾ Archiv f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XXXVI, S. 45 (1895).

²⁾ Archiv f. Phys., Bd. LXXX, S. 241 (1900).

³⁾ Lit. s. bei B. Bloch, Biochem. Zentralbl., Bd. V, S. 562 (1906).

⁴⁾ B. Bloch, l. c.

Einzelheiten dieser bedeutungsvollen Tatsachen können wir an dieser Stelle verzichten. Uns interessiert hier die Frage, in welchen Organen die Entmethylierung bzw. der vollständige Abbau der mehrfach methylierten Xanthine erfolgt.

Hierüber liegen bereits Untersuchungen vor von Albanese,¹⁾ wonach der Sitz der Umwandlung des Coffeins in Monomethylxanthin in der Leber ist, und von Schittenhelm,²⁾ welcher zeigen konnte, daß nach Digestion eines wässerigen Auszugs von Rindermilch mit Coffein mit Kupfersulfat-Bisulfit ausfällbare Körper auftreten. Kotake³⁾ fand bei Digestionsversuchen von Coffein mit Rinderleber dasselbe. Für die von ihm dabei gefundenen Monomethylxanthine fehlt jegliche Beweisführung. — Eine systematische Durchführung dieser Untersuchungen schien noch wünschenswert.

Auf zweierlei Wegen kann man dabei vorgehen. Entweder ist nach Digestion des Organbreis mit einem zugesetzten Tri- oder Dimethylxanthin der Nachweis des bzw. der zu erwartenden Di- bzw. Monomethylxanthine zu erbringen oder es ist durch Restbestimmung die Menge des umgewandelten Methylxanthins festzustellen. Der erste Weg führte zu keinem Resultat: in einer größeren Anzahl von Versuchen, die in der unten angegebenen Weise mit Hundeorganen unter Zusatz von Theophyllin angestellt wurden, war nie 3-Methylxanthin, dessen Bildung nach dem Stoffwechselversuch anzunehmen war, aufzufinden. Möglicherweise liegt dies daran, daß die Menge des entstehenden 3-Methylxanthin zu gering ist, und dadurch der Analyse entgeht. Der zweite indirekte Weg führte zum Ziel.

Nach dem Ergebnis des Theophyllinfütterungsversuchs am Hund (Krüger und Schmid⁴⁾), wobei 17,7% Theophyllin und 17,9% 3-Methylxanthin aus dem Harn isoliert wurden, war in den Organbreiversuchen ein restloses Verschwinden des Theophyllins von vornherein nicht zu erwarten. Die Versuche haben ergeben, daß an der Entmethylierung bzw. dem totalen Abbau

¹⁾ Archivio di Farmacolog. e science affini, Bd. II, S. 352 (1903).

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLIII, S. 228 (1904).

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LVII, S. 378 (1909).

⁴⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVI, S. 1 (1902).

des Theophyllins, damit also wohl auch der andern mehrfach methylierten Xanthine, alle daraufhin untersuchten Organe (Blut, Leber, Niere, Milz, Lunge, Muskel) ungefähr in gleichem Maß beteiligt sind. Besonders soll hervorgehoben werden, daß die methylierten Purine auch im Blut angegriffen werden, während dieses auf die Amino- und Oxypurine bekanntlich nicht einwirkt.

Versuche.

Die Versuche wurden an Hundeorganen (vom kurz vorher getöteten Tier) angestellt. Die Organe wurden stark zerkleinert und mit Quarzsand zerrieben, mit der doppelten Gewichtsmenge physiologischer Kochsalzlösung und der abgewogenen Menge Theophyllin, sowie mit einer Chloroform-Toluolmischung versetzt. In Versuch I blieben die Organbreiportionen 24 Stunden im Brutschrank (37°) unter häufigem Schütteln, in Versuch II im Wasserbad bei 37° unter ständiger Luftdurchleitung 36 Stunden lang stehen und wurden dann sofort verarbeitet.

Von dem verwandten Theophyllinpräparat ergaben

$$0,230 \text{ g} = 0,0647 \text{ g N} = 28,13\% \text{ N und}$$

$$0,215 \text{ } > = 0,0606 \text{ } > > = 28,18\% \text{ } >$$

$$\text{Verlangt } 28,28\% \text{ N.}$$

Das Theophyllin wurde auf folgende Weise aus dem Organbrei isoliert: das Eiweiß des Organbreis wird in üblicher Weise durch Essigsäure heiß ausgefällt, der Niederschlag noch dreimal alkalisch aufgeköcht und wieder gefällt. Aus den gesammelten Filtraten wurden die Basen durch die Kupfersulfatmethode gewonnen. Diese wurden dann in ungefähr 30 ccm Wasser gelöst und mit soviel starker Natronlauge versetzt, daß die Lösung 10% an Ätznatron enthält. Meist beginnt sofort Theophyllinnatrium auszufallen; nach 24stündigem Stehen im Eisschrank ist dieses jedenfalls, wie sich aus Kontrollen ergibt, total ausgefallen. Der krystallinische Niederschlag wird über Asbest abgesaugt und mit 10%iger Natronlauge ausgewaschen und dann in heißem Wasser gelöst. In einem aliquoten Teil der Lösung wird durch die N-Bestimmung der Gehalt an Theophyllin festgestellt. Das freie Theophyllin krystallisiert aus der Theophyllinnatriumlösung nach Übersäuern mit Essigsäure

beim Einengen in den charakteristischen langen, glänzenden Nadelprismen aus.

Versuch I.

Kontrollversuche:

1. 70 g Leber + 0,4 g Theophyllin sofort verarbeitet ergibt in $\frac{1}{4}$ der Theophyllinnatriumlösung für N = 17,40 und 17,45 ccm $\frac{1}{10}$ -N.-S.

Gesamtmenge = 0,3439 g Theophyllin
= 86,0% Th. wiedergewonnen.

2. 80 ccm Blut in 0,15 g Natriumoxalat aufgefangen + 0,4 g Theophyllin, sofort verarbeitet, ergibt in $\frac{1}{4}$ der Theophyllinnatriumlösung für N = 15,5 und 15,5 ccm $\frac{1}{10}$ -N.-S.

Gesamtmenge = 0,3062 g Theophyllin
= 76,5% Th. wiedergewonnen.

Im Filtrat vom Theophyllinnatrium keine Kupferfällung.

Versuche:

1. 100 g Leber + 0,4 g Theophyllin (24 Stunden Brutschrank) ergibt in $\frac{1}{4}$ der Theophyllinnatriumlösung für N = 13,1 und 13,2 ccm.

Gesamtmenge = 0,2598 g Theophyllin
= 64,95% Th. wiedergewonnen.

Das Filtrat vom Theophyllinnatrium blieb noch weitere 24 Stunden im Eisschrank: kein weiteres Ausfallen von Th. Im Filtrat geringe Kupferfällung: für N = 2,4 ccm $\frac{1}{10}$ -N.-S. = 3,4 mg Basen-N.

2. 80 ccm Blut in 0,15 g Natriumoxalat aufgefangen + 0,4 g Theophyllin (24 Stunden Brutschrank) ergibt in $\frac{1}{4}$ der Theophyllinnatriumlösung für N = 6,6 und 6,6 ccm $\frac{1}{10}$ -N.-S.

Gesamtmenge = 0,1364 g Theophyllin
= 36,6% Th. wiedergewonnen.

Bei weiterem 24stündigem Stehen der Theophyllinnatriumlösung im Eisschrank kein weiteres Ausfallen von Theophyllinnatrium. Filtrat gibt schwache Kupferfällung: für N = 3,0 ccm $\frac{1}{10}$ -N.-S., auf Theophyllin berechnet = 0,014 g.

3. 60 g Muskel + 0,4 g Theophyllin (24 Stunden Brutschrank) ergibt in $\frac{1}{4}$ der Theophyllinnatriumlösung für N = 14,05 und 14,20 ccm $\frac{1}{10}$ -N.-S.

Gesamtmenge = 0,2787 g Theophyllin
= 69,7% Th. wiedergewonnen.

4. 22 g Nieren + 0,4 g Theophyllin (24 Stunden Brutschrank) ergibt in $\frac{1}{4}$ der Theophyllinnatriumlösung für N = 9,65 und 10,0 ccm $\frac{1}{10}$ -N.-S.

Gesamtmenge = 0,1846 g Theophyllin
= 46,1% Th. wiedergewonnen.

5. 31 g Lungen + 0,4 g Theophyllin (24 Stunden Brutschrank) ergibt in $\frac{1}{4}$ der Theophyllinnatriumlösung für $N = 9,70$ ccm $\frac{1}{10}$ -N.-S.

Gesamtmenge = 0,1917 g Theophyllin
= 47,9% Th. wiedergewonnen.

Versuch II.

Kontrollversuch.

250 ccm Blut in 0,4 g Natriumoxalat aufgefangen + 0,5 g Theophyllin, sofort gefällt, ergibt in $\frac{1}{2}$ der Theophyllinnatriumlösung für $N = 40,50$ ccm $\frac{1}{10}$ -N.-S.

Gesamtmenge = 0,3993 g Theophyllin
= 80% Th. wiedergefunden.

Versuche:

1. a) 250 ccm Blut in 0,4 g Natriumoxalat aufgefangen + 0,5 g Theophyllin (36 Stunden Luftdurchleitung) ergibt in $\frac{1}{2}$ der Theophyllinnatriumlösung für $N = 33,85$ ccm $\frac{1}{10}$ -N.-S.

Gesamtmenge = 0,3346 g Theophyllin
= 66,9% Th. wiedererhalten.

b) 2. Blutversuch, ebenso angestellt, ergibt 59,2% Theophyllin wiedererhalten.

2. 150 g Leber + 0,5 g Theophyllin (36 Stunden Luftdurchleitung) ergibt in $\frac{1}{2}$ der Theophyllinnatriumlösung für $N = 27,05$ ccm $\frac{1}{10}$ -N.-S.

Gesamtmenge = 0,2677 g Theophyllin
= 53,3% Th. wiedererhalten.

3. 140 g Nieren + 0,5 g Theophyllin (36 Stunden Luftdurchleitung) ergibt in $\frac{1}{2}$ der Theophyllinnatriumlösung für $N = 26,3$ ccm $\frac{1}{10}$ -N.-S.

Gesamtmenge = 0,260 g Theophyllin
= 52% Th. wiedererhalten.

4. 70 g Milz + 0,5 g Theophyllin (36 Stunden Luftdurchleitung) ergibt in $\frac{1}{2}$ der Theophyllinnatriumlösung für $N = 28,20$ ccm $\frac{1}{10}$ -N.-S.

Gesamtmenge = 0,279 g Theophyllin
= 55,8% Th. wiedererhalten.

5. 130 g Lunge + 0,5 g Theophyllin (36 Stunden Luftdurchleitung) ergibt in $\frac{1}{2}$ der Theophyllinnatriumlösung für $N = 28,0$ ccm $\frac{1}{10}$ -N.-S.

Gesamtmenge = 0,277 g Theophyllin
= 55,4% Th. wiedererhalten.

Die Frage, ob im Abbau der methylierten Xanthine (Xanthin und) Harnsäure entstehen kann, galt bisher nach den Ergebnissen zahlreicher Untersucher (Minkowski,¹⁾ Burian und Schur,²⁾ Krüger und Schmid,³⁾ Schmid⁴⁾ u. a.) als end-

¹⁾ Archiv f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XLI, S. 375 (1898).

²⁾ l. c.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXII, S. 104 (1901).

⁴⁾ D. Arch. f. klin. Med., Bd. LXXVII, S. 505 (1903).

gültig negativ entschieden. Wir haben jedoch neuerdings Ursache, diese Untersuchungen wieder aufzunehmen. Besser¹⁾ konnte nämlich am purinfrei ernährten Menschen — die früheren Untersuchungen wurden nicht unter dieser Kautele angestellt oder wurde die Purinfreiheit der Nahrung nicht sorgfältig genug behandelt — auf Coffein- und Theobromindarreichung eine zweifellose Steigerung der \bar{U} -Ausscheidung konstatieren, und Schittenhelm²⁾ hat am purinfrei gefütterten Hund auf dieselben Zulagen eine zwar geringe, aber ausgesprochene Steigerung der Allantoinmenge im Harn erzielt.

Zur Prüfung dieser Frage wurde im Anschluß an die erstangeführten Versuche eine weitere Versuchsreihe mit Organextrakten angeschlossen. Verwendet wurden dazu Rinderorgane (Leber, Darm, Lunge, Milz), da diesen eine ausgesprochene \bar{U} -bildende Fähigkeit zukommt und dazu wenigstens im Darm, Lunge und Milz das harnsäurezerstörende Ferment fehlt (Schittenhelm³⁾). Eine geringe \bar{U} -Bildung aus den organ-eigenen Purinkörpern finden wir daher bei diesen Organen schon bei der Autolyse regelmäßig.

500 g des zerriebenen Organbreis wurden mit 1000 ccm Wasser 24 Stunden in der Kälte stehen gelassen, alsdann durch ein Koliertuch gepreßt. Jeder Extrakt wurde in 2 Teile geteilt und mit 0,5 g Theophyllin bzw. 0,5 g Theobromin und Toluolchloroform versetzt, unter Luftdurchleitung 36 Stunden stehen gelassen.

In keinem Falle konnten dann nach der üblichen Verarbeitung mehr als höchstens Spuren von \bar{U} (durch Murexid und Isolierung nach Horbaczewski) nachgewiesen werden. Dieses negative Resultat deckte sich mit den gemeinsam von Brugsch, Pincussohn und Schittenhelm⁴⁾ durch Digestion von Rindermilz und Pferdelage unter Zusatz von Coffein gewonnenen Ergebnissen.

¹⁾ Ther. d. Gegenw., Bd. L, S. 321 (1909).

²⁾ Therap. Monatsh., Bd. XXIV, S. 113 (1910).

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLV, S. 121 (1905).

⁴⁾ Zentralbl. f. d. ges. Phys. u. Path. d. Stoffw., Bd. III, Nr. 8 (1908).