

38. G. Bruhns: Ueber Adenin und Hypoxanthin<sup>1)</sup>.

(Eingegangen am 27. Januar; mitgetheilt in der Sitzung von Hrn. A. Pinner.)

Das Adenin krystallisirt aus schwach verunreinigten Lösungen zuweilen in perlmutterglänzenden Blättchen, welche von den gewöhnlich erhaltenen und bereits krystallographisch untersuchten nadelförmigen Krystallen äusserlich ganz verschieden sind, aber doch dieselbe Zusammensetzung  $C_5H_5N_5 + 3H_2O$  besitzen und auch bei 53—54° unter Verlust ihres Krystallwassers weiss werden. Die Blättchen scheinen daher nur schlecht ausgebildete Krystallformen zu sein. Unter dem Mikroskop lassen sie keine bestimmten Umrisse erkennen.

Pikrinsaures Adenin. Mit Pikrinsäure bildet das Adenin eine Verbindung, welche in kaltem Wasser sehr schwer löslich ist (1 : 3500), leichter in heissem Wasser und in Alkohol. Sie fällt beim Vermischen der wässrigen Lösungen von Adeninsalzen und von pikrinsaurem Natrium als hellgelber flockiger Niederschlag aus. Mit heissem Wasser umkrystallisirt, stellt das pikrinsaure Adenin hellgelbe, sehr voluminöse Büschel von langen, mikroskopisch feinen Nadeln vor, nimmt beim Trocknen bei gewöhnlicher Temperatur Seidenglanz an und entspricht lufttrocken der Formel  $C_5H_5N_5, C_6H_2(N O_2)_3 OH + H_2 O$ . Es verliert bei 100° das Krystallwasser und bleibt dann selbst bei 220° unverändert.

Versetzt man eine concentrirte kalte wässrige Lösung des Salzes mit  $\frac{1}{10}$  Volum einer kalten concentrirten Lösung von pikrinsaurem Natrium, so scheidet sich der grösste Theil ( $\frac{5}{7}$ ) des pikrinsauren Adenins in kurzen feinen Nadeln schnell ab. Der Niederschlag ist frei von Natrium.

Quantitative Bestimmung des Adenins. Das pikrinsaure Adenin lässt sich vortheilhaft zur quantitativen Ausfällung des Adenins aus wässrigen Lösungen verwenden. Die Lösung muss neutral oder schwach sauer sein; ein zu grosser Säureüberschuss wirkt nachtheilig, weniger wegen Erhöhung der Löslichkeit des pikrinsauren Adenins, als weil er die Ausscheidung von Pikrinsäure aus dem im Ueberschuss zuzusetzenden Natriumpikrat veranlassen könnte. Bei Gegenwart freier oder kohlensaurer Alkalien selbst in geringer Menge wird die vollständige Fällung jedoch bedeutend verzögert oder ganz verhindert.

Der Niederschlag wird 15 Minuten nach vorgenommener Fällung unter Zuhülfenahme einer schwachen Saugvorrichtung auf ein gewogenes Filter gebracht, mit kaltem Wasser ausgewaschen, bis das Filter nicht mehr gelb erscheint, und bei 100° getrocknet.

<sup>1)</sup> Ein ausführlicherer Bericht erscheint in der »Zeitschrift für physiologische Chemie«.

Will man die Löslichkeit des pikrinsauren Adenins in der Mutterlauge und im Waschwasser berücksichtigen, so hat man dem berechneten Adenin pro 100 ccm Filtrat 2.2 mg hinzuzufügen. Die folgenden Analysen mögen als Belege dienen:

|      | Angewandtes Adenin | Erhaltenes Adenin |               |
|------|--------------------|-------------------|---------------|
|      |                    | ohne Correctur    | mit Correctur |
| I.   | 0.2031 g           | 0.1995 g          | 0.2031 g      |
| II.  | 0.2159 »           | 0.2124 »          | 0.2159 »      |
| III. | 0.1022 »           | 0.1000 »          | 0.1024 »      |
| IV.  | 0.0360 »           | 0.0348 »          | 0.0367 »      |
| V.   | 0.0540 »           | 0.0527 »          | 0.0546 »      |
| VI.  | 0.0621 »           | 0.0609 »          | 0.0627 »      |

Bei Gegenwart von Hypoxanthin, selbst in relativ grosser Menge, findet die Ausfällung genau ebenso statt, da das pikrinsaure Hypoxanthin bedeutend leichter löslich ist:

|        | Angewandtes Adenin | Zusatz von Hypoxanthin | Erhaltenes Adenin |               |
|--------|--------------------|------------------------|-------------------|---------------|
|        |                    |                        | ohne Correctur    | mit Correctur |
| VII.   | 0.0659 g           | 0.1089 g               | 0.0648 g          | 0.0665 g      |
| VIII.  | 0.0316 »           | 0.0280 »               | 0.0271 »          | 0.0297 »      |
| IX.    | 0.0299 »           | 0.0453 »               | 0.0274 »          | 0.0298 »      |
| X.     | 0.0411 »           | 0.0122 »               | 0.0394 »          | 0.0416 »      |
| XI.    | 0.0459 »           | 0.0920 »               | 0.0425 »          | 0.0451 »      |
| XII.   | 0.0065 »           | 0.0432 »               | 0.0041 »          | 0.0065 »      |
| XIII.  | 0.0512 »           | 0.0121 »               | 0.0492 »          | 0.0516 »      |
| XIV.   | 0.0529 »           | 0.0597 »               | 0.0506 »          | 0.0530 »      |
| XV.    | 0.0228 »           | 0.0261 »               | 0.0190 »          | 0.0214 »      |
| XVI.   | 0.0191 »           | 0.0555 »               | 0.0175 »          | 0.0194 »      |
| XVII.  | 0.0164 »           | 0.0250 »               | 0.0130 »          | 0.0154 »      |
| XVIII. | 0.0552 »           | 0.0218 »               | 0.0525 »          | 0.0554 »      |
| XIX.   | 0.0092 »           | 0.0529 »               | 0.0072 »          | 0.0091 »      |
| XX.    | 0.0157 »           | 0.0493 »               | 0.0134 »          | 0.0158 »      |

Aus dem Filtrat des pikrinsauren Adenins kann das Hypoxanthin, wenn keine Salzsäure, Bromwasserstoff u. s. w. gegenwärtig ist, durch ammoniakalische Silbernitratlösung sehr schnell und vollständig ausgefällt werden. Der Niederschlag ist gelb gefärbt und lässt sich mit heissem Wasser nicht ganz von dieser Färbung befreien, jedoch beträgt die durch Verunreinigung mit Pikrinsäure bewirkte Gewichtserhöhung nach besonderen Versuchen so wenig, dass man von derselben absehen kann.

Wichtig ist es dagegen, den erhaltenen Niederschlag von Hypoxanthinsilberoxyd längere Zeit bei 120° zu trocknen; erst dann entspricht er der von Strecker<sup>1)</sup> aufgestellten Formel  $(C_5H_3Ag_2N_4O)_2, H_2O$ , wenn man die geringe Menge als  $C_5H_3Ag_2N_5, H_2O$  darin enthaltenen Adenins unberücksichtigt lässt. Letzteres bewirkt ein Mehrgewicht gegen die angewandte Menge von 3.0 mg<sup>2)</sup> (auf Hypoxanthin berechnet!), die man daher von dem erhaltenen Hypoxanthin abziehen muss. Die Löslichkeit des Silberniederschlags in Wasser ist so gering, dass man sie nicht zu berücksichtigen braucht, wenn man nur so viel Ammoniak zusetzt, dass das Filtrat der Pikrinsäurefällung eben alkalisch reagiert und auch zu der ammoniakalischen Silberlösung nur so viel, dass das Silberoxyd gerade gelöst ist. Grössere Mengen von Ammoniak wirken beträchtlich lösend auf den Niederschlag. Die Fällung wird am besten in der Siedehitze vorgenommen und sofort abfiltriert, wenn sich der Niederschlag gesenkt hat; das Auswaschen kann mit heissem Wasser geschehen.

Ist in der ursprünglichen Lösung eine Säure enthalten, welche in schwach ammoniakalischer Lösung mit Silbernitrat eine Fällung erzeugt, z. B. Salzsäure, so verfährt man derartig, dass man mit ammoniakalischer Silberlösung vollständig ausfällt, den Niederschlag etwas auswäscht, dann mit Salpetersäure vom spec. Gewicht 1.1 vom Filter spritzt und drei- bis viermal mit erneuten Portionen derselben auskocht. Die vereinten sauren Filtrate lässt man mit etwas Silbernitrat 24 Stunden stehen, sammelt das ausgeschiedene Hypoxanthinsilbernitrat auf einem getrockneten und gewogenen Filter und trocknet es bei 100°. Man erhält für je 100 ccm zur Lösung verwandter Salpetersäure im Durchschnitt 3.1 mg Hypoxanthin weniger, als der Berechnung entspricht, weil das Hypoxanthinsilbernitrat in der angewandten Säure etwas löslich ist<sup>3)</sup>, und wahrscheinlich das zugleich

<sup>1)</sup> Ann. Chem. Pharm. 108, 136.

<sup>2)</sup> Diese Zahl war bei allen angestellten Versuchen ziemlich constant obwohl sie von der Menge des gelöst gebliebenen Adenins abhängig ist.

<sup>3)</sup> Vergl. Neubauer's Angaben, Zeitschr. f. anal. Chem. 6, 33. Dass ich eine höhere Löslichkeit fand, als Neubauer, beruht vermuthlich auf dem oben angegebenen Grunde.

mitgefällte Chlorsilber etwas von dem Niederschlage einschliesst. Andererseits enthält das so gewonnene Hypoxanthinsilbernitrat stets geringe Mengen von Chlorsilber, wodurch sein Silbergehalt (durch Glühen bestimmt) auf 36.5 pCt. gesteigert wird (Theorie 35.3 pCt.).

Die hiermit beschriebene Methode zur quantitativen Bestimmung von Adenin und Hypoxanthin schliesst sich eng an das bis jetzt allgemein angewandte Trennungsverfahren für Xanthin, Guanin und Hypoxanthin an, bei welchem auf das erst später entdeckte Adenin noch nicht Rücksicht genommen war.

Das Adenin fällt dabei vollständig neben dem Hypoxanthin als Adeninsilbernitrat aus der salpetersauren Lösung aus, in welcher das Xanthin gelöst bleibt. Schindler<sup>1)</sup> hat versucht, die Mengen beider Basen durch Bestimmung des Stickstoffgehalts ihrer Mischung zu ermitteln; dies ist aber nur als ein vorläufiger Nothbehelf anzusehen, da die Resultate schon wegen der Mängel der Dumas'schen Stickstoffbestimmungsmethode höchst ungenau werden müssen. In solchen Fällen bewährt sich die Pikrinsäurefällung als sehr genau und einfach.

Zur Darstellung der freien Basen aus den Verbindungen mit Silber oder Silbernitrat wandte man bis jetzt allgemein die Zerlegung durch Schwefelwasserstoff (oder Schwefelammonium bei Schindler) an; ich habe dieselben weit bequemer und schneller durch Erwärmen jener Verbindungen mit stark verdünnter Salzsäure erhalten, was besonders beim Guanin vortheilhafter ist, da bei der Anwendung von Schwefelwasserstoff meistens ein Theil der Base in den Schwefelsilber-Niederschlag übergeht und aus diesem durch Salzsäure ausgekocht werden muss.

Die Zerlegung der Silberverbindungen durch Salzsäure geht vollkommen glatt vor sich, und wenn man mit genügend verdünnter Lösung arbeitet, wird dabei trotz der gleichzeitigen Anwesenheit von Salpetersäure und Salzsäure weder Adenin in Hypoxanthin übergeführt, noch ein Theil der Basen durch Oxydation zerstört. Die hierbei erhaltene Lösung der Basen eignet sich nach annähernder Neutralisation (durch Zusatz von Natriumdicarbonat, bis nur noch schwaches Brausen bemerkbar ist) zur Analyse nach dem oben beschriebenen Verfahren.

Adenin-Hypoxanthin. Mit Hülfe dieser analytischen Methode habe ich eine Verbindung von Adenin und Hypoxanthin aufgefunden, welche aus Wasser in kleinen perlenartigen, aus äusserst feinen mikroskopischen Nadeln bestehenden Aggregaten krystallisirt, meistens aber beim Abkühlen concentrirterer heisser Lösungen in amorphen, geschabter Kreide ähnlichen oder sehr voluminösen kleisterartigen Massen ausfällt und sich durch Zusammenbringen der Bestand-

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chem. XIII, 432.

theile in wässriger Lösung darstellen lässt. Im krystallisirten luft-trockenen Zustande entspricht sie der Formel  $C_5H_4N_4O$ ,  $C_5H_5N_5 + 3H_2O$ . Sie verwittert leicht und verliert bei  $100^\circ$  schnell alles Wasser. Sie bildet ein einheitliches salzsaures Salz, dessen Formen von denjenigen des salzsauren Adenins und des salzsauren Hypoxanthins abweichen, lässt sich aber durch Lösen in verdünnter Schwefelsäure und fractionirte Krystallisation in Adenin und Hypoxanthin zerlegen. Diese Substanz scheint manche Irrthümer und Unklarheiten über die Eigenschaften des Hypoxanthins, sowie auch den Umstand zu erklären, dass das Adenin so lange bei seinem Vorkommen neben dem Hypoxanthin übersehen werden konnte, da man die Verbindung beider wohl einer gewissen Aehnlichkeit wegen öfter für Hypoxanthin gehalten haben mag.

Adeninbromid. Durch Behandlung gut getrockneten Adenins mit überschüssigem trockenem Brom habe ich einen dunkelrothen Körper erhalten, welcher nach den aus abgewogenen Quantitäten Adenin entstehenden Mengen zu urtheilen 6 Atome Brom enthalten muss. Er zersetzt sich schon beim Liegen an der Luft unter Abgabe von Brom, schneller beim Erhitzen auf 100 bis  $120^\circ$  und bildet dabei ein Bromadenin von der Formel  $C_5H_4BrN_5$ . Dasselbe ist weiss, in kaltem Wasser sehr schwer (1 : 10000), in heissem leichter, sehr leicht in Ammoniak löslich. Es krystallisirt aus Wasser oder verdünntem Ammoniak in sternförmig gruppirten Nadeln, ist eine ziemlich starke Base und bildet wohlcharakterisirte Salze, aus denen es durch Zusatz von Ammoniak sofort als weisser mikrokrySTALLINISCHER Niederschlag gefällt wird. Es bildet sich aus dem Adeninbromid auch durch Behandlung mit Natriumbisulfit. Das pikrinsaure Bromadenin ist dem pikrinsauren Adenin sehr ähnlich, bildet aber noch voluminösere Massen. Die Silberverbindungen scheinen nach einigen quantitativ ausgeführten Fällungsversuchen keine ganz constante Zusammensetzung zu haben, sind aber dem Adeninsilber und Adeninsilbernitrat äusserlich ganz ähnlich. Das Bromadeninsilbernitrat zersetzt sich beim Kochen mit Salpetersäure unter Abscheidung von Bromsilber.

Durch Kochen mit alkoholischer Kalilauge wird das Bromadenin nur sehr schwer angegriffen.

Ein Bromhypoxanthin lässt sich in ähnlicher Weise nicht herstellen.

Mit der weiteren Untersuchung dieses Körpers bin ich noch beschäftigt.

Hrn. Prof. Dr. Kossel, unter dessen Leitung diese Arbeit ausgeführt wird, bin ich für seine Anregung und bereitwillige Unterstützung zu grossem Danke verpflichtet.