

# Ueber die Wirkung des Phenylhydrazins auf den Organismus.

Von

**Georg Hoppe-Seyler.**

(Der Redaktion zugegangen am 16. August 1884.)

Vor Kurzem hat Emil Fischer<sup>1)</sup> Untersuchungen über die Verbindungen, die das Phenylhydrazin mit Aldehyden und Ketonen eingeht, veröffentlicht. Von besonderem Interesse für die Physiologie sind die Verbindungen mit den Kohlehydraten, schwer lösliche, daher leicht zu isolirende Körper. Es lag nun nahe zu untersuchen, wie sich das Phenylhydrazin im thierischen Organismus verhalte, wo ihm ja derartige Substanzen in Menge zu Gebote stehen. Vielleicht war es so möglich, auf die Entstehungsweise vieler Ausscheidungsprodukte, welche jetzt im Vordergrund des Interesses stehen, einiges Licht zu werfen. Wenn in dieser Beziehung bis jetzt die Resultate nicht den gehegten Erwartungen entsprachen, so ergaben sich bei den angestellten Versuchen doch Thatsachen, welche der Veröffentlichung wohl werth sein mögen.

Versuch I. Zunächst gab ich einem mittelgrossen Kaninchen 1 gr. der reinen Substanz mit der Schlundsonde in den Magen. Nach vier Stunden war das Thier todt, ohne charakteristische Alterationen des Allgemeinbefindens gezeigt zu haben. Bei der bald nach dem Tode ausgeführten Section fiel mir sogleich die schwärzlich-braune Färbung der Organe, namentlich der Lungen, auf; die venösen Gefässe waren mit schwarz-braunen Gerinnseln erfüllt, das wenige, noch flüssige Blut gerann sogleich im Glase zu einer braunen Gallerte. Mit Wasser geschüttelt, zeigte die Lösung die Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins noch, dabei diffuse Verdunkelung von Grün und Blau, aber keinen Absorptionsstreifen im Roth, Methämoglobin war also nicht in nach-

<sup>1)</sup> Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XVII. S. 572 ff.

weisbaren Spuren vorhanden. Die Nieren waren stark geschwollen, der Durchschnitt schwarz-braun gefärbt mit radiären, blutigen Streifen. Mikroskopisch waren die Harnkanälchen z. Th. mit Blutkörperchen gefüllt zu sehen. Es zeigte sich also eine Veränderung des Blutes, wie sie ähnlich vom Hydroxylamin<sup>1)</sup> beschrieben ist, und deren Folgen.

**Versuch II.** Es wurde nun einem Kaninchen 0,5 ccm. Phenylhydrazin am Morgen unter die Haut gespritzt. Die Substanz wurde nur sehr langsam resorbirt, da sie ja nur schwer in Wasser löslich ist. In der darauffolgenden Nacht starb das Thier, und es zeigten sich bei der Section im Wesentlichen dieselben Verhältnisse, wie in Versuch I.; in der Nähe der Injektionsstelle waren die Hautvenen mit braunen, krümeligen Massen gefüllt, ein Theil der Substanz war noch im Unterhautzellgewebe nachzuweisen.

Da das Phenylhydrazin stark alkalisch reagirt, so war es möglich, dass seine Wirkung auf das Blut wesentlich auf dieser Eigenschaft beruhte. Ich stellte mir daher nach der von E. Fischer<sup>2)</sup> beschriebenen Methode das reine salzsaure Salz dar; dasselbe krystallisirte in glänzenden, weissen Blättchen und war in Wasser sehr leicht mit neutraler Reaction löslich.

**Versuch III.** Von einer 5procentigen Lösung wurde einem mittelgrossen Kaninchen 1 ccm. = 0,05 gr. der Substanz unter die Haut gespritzt. Der am nächsten Morgen vorgefundene Harn war trüb, braun gefärbt, alkalisch, zeigte die Oxyhämoglobinstreifen, aber keinen Absorptionsstreifen im Roth. Im Sediment waren röhreartige Blutkörperchen und einige mit Blut gefüllte Harncylinder zu constatiren. Alkalische Kupfersulfatlösung reducirte der Harn nicht. Auch an den nächsten zwei Tagen enthielt der Harn noch Blut und reducirte ausserdem, nachdem das Eiweiss entfernt war, stark alkalische Kupfersulfatlösung beim Erwärmen. Dabei war ziemlich viel Phenol vorhanden, ohne dass die Menge der Aetherschwefelsäuren eine abnorm grosse gewesen wäre. Eine Drehung der Polarisationssebene war nicht zu constatiren. Dann kehrte der Urin allmählich zur Norm zurück. Eine zweite Injektion von 1 ccm. der Lösung = 0,05 gr. der Substanz hatte jedoch den Tod des Thieres zur Folge. Die Herzhöhle und die grossen Venen waren wieder mit grossen, schwarz-braunen Gerinnseln erfüllt, obwohl das Thier noch warm war; die Gefässe der Umgebung der zweiten Injektionsstelle waren mit bräunlichen Massen gefüllt, die ältere Injektionsstelle war als brauner Fleck unter der Cutis noch sichtbar. Im Uebrigen waren die Verhältnisse dieselben, wie sie in Versuch I beschrieben sind.

**Versuch IV.** Einem Kaninchen von annähernd derselben Grösse wurde 1 ccm. einer 2,5proc. Lösung = 0,025 gr. der Substanz unter

<sup>1)</sup> Vgl. Raimondi und Bertoni: Gazz. chim. ital. 1882, S. 199.

<sup>2)</sup> Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XVII, S. 573.

die Haut injicirt. Daraufhin liess sich im Urin keine wesentliche Veränderung nachweisen.

Versuch V. Ich untersuchte nun die Wirkung des salzsauren Phenylhydrazins vom Magen aus. Es wurde einem Kaninchen 0,1 gr. mit der Schlundsonde gegeben, ohne dass in den nächsten Tagen eine nachweisbare Wirkung sich gezeigt hätte. Es wurde ihm 0,2 gr. gegeben. Daraufhin reducirte der Harn am nächsten Tage ziemlich stark alkalische Kupfersulfatlösung, Blut oder Eiweiss traten jedoch nicht darin auf. Als dem Thier aber 0,5 gr. eingeführt wurden, starb es in der folgenden Nacht und bei der Section fanden sich dieselben Veränderungen, wie in den früheren Versuchen; die Magenvenen waren mit bräunlichen Massen gefüllt; der in der Blase vorhandene Urin enthielt Blut, reducirte jedoch nicht stark.

Aus den mitgetheilten Versuchen ging hervor, dass die Wirkung des Phenylhydrazins auf den Organismus im Wesentlichen auf einer Veränderung des Blutfarbstoffes beruht. Es musste daher das Verhalten des Phenylhydrazins, bezw. das seines salzsauren Salzes den Blutfarbstoffen gegenüber untersucht werden.

Mit 1 procentiger Kochsalzlösung gefällte Blutkörperchen wurden in so viel Wasser gelöst, dass die Oxyhämoglobinstreifen gerade bequem zu unterscheiden waren. Wurde eine derartige Lösung mit etwas Phenylhydrazin im Reagirrohr geschüttelt, so zeigte sich schnell eine braune Färbung der Lösung, und die Oxyhämoglobinstreifen verschwanden; das Spectrum enthielt keine scharfen Absorptionsstreifen mehr, sondern nur eine diffuse Verdunkelung von Grün und Blau.

Eine Blutkörperchenlösung von der angegebenen Verdünnung wurde ferner im oben geschlossenen Rohre ohne Luft über Quecksilber aufgestellt und der Fäulniss überlassen, bis die Oxyhämoglobinstreifen vollständig verschwunden waren, nur noch Hämoglobin vorhanden war. Dann wurde etwas Phenylhydrazin mit der Pipette eingelassen. An der Berührungsstelle bildete sich allmählich ein rother Niederschlag, während zugleich die nächsten Theile der Lösung eine purpurrothe Färbung annahmen. Spektroskopisch waren daselbst deutlich die Absorptionsstreifen des Hämochromogens wahrzunehmen. Diese Färbung verlor sich im Verlauf einiger Tage, es trat Entfärbung dieser Theile ein, während weiter

oben im Rohr das Hämoglobin unverändert blieb. Es wurde nun etwas Luft eingeblasen. Bald färbten sich die an den Luftraum grenzenden Theile braun und allmählich verbreitete sich diese Färbung nach unten, ohne dass Methämoglobin in nachweisbarer Menge aufgetreten wäre. Das Spektrum zeigte nur diffuse Verdunkelung von Grün und Blau, Oxyhämoglobin bildete sich nirgends.

Auch eine neutral reagirende Lösung des salzsauern Phenylhydrazins, mit Blutkörperchenlösung geschüttelt, ergab die beschriebene Braunfärbung der Lösung. Bei Anwendung einer so concentrirten Blutlösung, dass beim Durchsehen mit dem Spektroskop nur gerade das Roth noch gesehen werden konnte, zeigte sich, als sie mit etwas wässriger Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin versetzt wurde, schwach, aber deutlich der Methämoglobinstreifen im Roth, der beim Umschütteln jedoch alsbald verschwand. Die braun gewordene Lösung wurde mit schwefelsäurehaltigem Alkohol versetzt und erwärmt, dann filtrirt. Das Filtrat zeigte nicht die Absorptionsstreifen des Hämatins. Es mussten also noch unbekannte Körper, Zersetzungsprodukte des Oxyhämoglobins auftreten.

Eine verdünnte Blutkörperchenlösung wurde, im oben geschlossenen Rohr über Quecksilber aufgestellt, faulen gelassen, bis nur noch Hämoglobin darin zu constatiren war. Dann wurde etwas vorher ausgekochte Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin eingelassen. Es zeigte sich keine Veränderung des Hämoglobins in den nächsten Tagen; sowie jedoch Luft eingeblasen wurde, trat Bräunung ein, welche von dem Luftraume sich allmählich nach unten verbreitete und nur allgemeine Verdunkelung von Grün und Blau im spektroskopischen Bilde erzeugte.

Eine Lösung von Blutkörperchen, welche nur Oxyhämoglobin enthielt, wurde auch über Quecksilber abgeschlossen aufgestellt und etwas Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin unten eingelassen. Bald war unten die Blutlösung gebräunt und zeigte die diffuse Verdunkelung von Grün und Blau, darüber kam eine Schicht, die nur Häm-

globin enthielt, und zu oberst waren die Oxyhämoglobinstreifen noch erhalten. Die Bildung des Hämoglobins ist wohl so zu erklären, dass zur Erzeugung des braunen Farbstoffs mehr Sauerstoff nöthig ist, als das Oxyhämoglobin enthält, so dass derselbe nach weiterem Oxyhämoglobin entzogen werden muss, worauf sich aus diesem Hämoglobin entwickelt. Denn Zwischenprodukt kann das Hämoglobin nach dem vorausgehenden Versuche nicht sein, da ohne Sauerstoff aus ihm der braune Farbstoff von dem salzsauren Phenylhydrazin nicht gebildet werden kann.

Um das braune Zersetzungsprodukt des Oxyhämoglobins näher zu untersuchen, wurden frischgesenkte Blutkörperchen in möglichst wenig Wasser gelöst und mit einer Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin so lange in einer Schale unter häufigem Umrühren versetzt, bis im Reagirrohr bei entsprechender Verdünnung keine Oxyhämoglobinstreifen mehr wahrzunehmen waren. Dabei zeigte sich, dass, nachdem das Oxyhämoglobin verschwunden war, die Masse, die allmählich breiartig wurde und sauer reagierte, sich in Wasser nicht mehr vollständig löste und beim Umschütteln mit Wasser einen schwachen Absorptionsstreifen im Grüngelb wahrnehmen liess. Dagegen löste sich die Masse, mit dem zehnfachen Volumen Alkohol versetzt, darin vollständig. Diese Lösung hatte roth-braune Farbe und zeigte einen scharfen, dunkeln Absorptionsstreifen hinter D und zwar etwas hinter der Stelle des näher an D liegenden Oxyhämoglobinstreifens, ausserdem war Grün und Blau diffus verdunkelt. Aetherzusatz bewirkte keine Fällung des Farbstoffs, ebensowenig Ammoniak, Schwefelsäure, neutrales und basisches Bleiacetat. Dagegen gab Quecksilberchlorid eine Trübung, wohl eine Verbindung mit überschüssigem, salzsaurem Phenylhydrazin.

Die alkoholische Lösung des Farbstoffs auf dem Wasserbade verdunstet, hinterlässt einen dunkel-grünen Körper. Derselbe ist in angesäuertem Alkohol ziemlich leicht, in angesäuertem Wasser schwerer, sonst nicht löslich. Spektroskopisch ist nur allgemeine Verdunkelung von Grün und Blau zu sehen, der Absorptionsstreif hinter D ist verschwunden.

Versetzt man den möglichst durch Waschen mit Wasser von überschüssigem, salzsauren Phenylhydrazin befreiten grünen Farbstoff mit etwas concentrirter Salpetersäure, so entsteht eine rothe Lösung, welche aber keine charakteristischen spektroskopischen Eigenschaften besitzt. Eine ähnliche Farbe gibt auch das salzsaure Phenylhydrazin mit concentrirter Salpetersäure; da jedoch der grüne Farbstoff mit Wasser öfters gewaschen war, konnte die Rothfärbung von überschüssigem salzsauren Phenylhydrazin nicht wohl herrühren. Der roth-braune Farbstoff geht in alkoholischer Lösung beim Stehen an der Luft sowohl, wie über Quecksilber abgeschlossen, in einigen Stunden in den grünen Farbstoff über, es ist daher schwer mit ihm zu operiren.

Aus den mitgetheilten Versuchen geht also hervor, dass sowohl das reine Phenylhydrazin, als seine salzsaure Verbindung Thiere in ziemlich geringer Dosis tödlet unter den Erscheinungen einer weitgehenden Blutzeretzung mit consecutiver Hämaturie. Das Gift wirkt stärker unter die Haut injicirt, als vom Magen aus. Es genügen 0,05 gr. salzsaures Phenylhydrazin unter die Haut injicirt, 0,5 gr. vom Magen aus, um ein mittelgrosses Kaninchen zu tödten.

Die Wirkung auf das Blut tritt nur bei Anwesenheit von Sauerstoff in demselben auf und besteht in der Bildung eines charakteristischen, bisher nicht bekannten Farbstoffs mit scharfem Absorptionsstreifen, der jedoch sehr leicht in eine andere, nicht durch scharfe Absorption des Spektrums gekennzeichnete Substanz übergeht. Das reine Phenylhydrazin wirkt vermöge seiner alkalischen Eigenschaft anders, als das neutrale salzsaure Salz, indem es aus Hämoglobin bei Ausschluss von Sauerstoff Hämochromogen bildet.

Weitere Versuche werden wohl noch mehr Licht auf diese Verhältnisse werfen; besonders möchte ich noch die Wirkung von Verbindungen des Phenylhydrazins mit Aldehyden etc. untersuchen. Doch schienen mir die bis jetzt erzielten Resulte wichtig genug, um sie jetzt schon zu veröffentlichen.