

Ueber das Vorkommen von Urethan im alkoholischen Extract des normalen Harns.

Von

M. Jaffé.

(Aus dem Laboratorium für medicinische Chemie zu Königsberg i. Pr.)
(Der Redaction zugegangen am 12. März 1890.)

Wiederholt bin ich bei der Verarbeitung grösserer Harnmengen einer in Wasser, Alkohol und Aether leicht löslichen, organischen Substanz begegnet, welche mit keinem der bekannten Bestandtheile des Urines übereinzustimmen schien.

In neuerer Zeit habe ich dieselbe, unter Mitwirkung des Herrn Dr. Rud. Cohn, einer genaueren Untersuchung unterworfen und zu ihrer Isolirung folgendes Verfahren benutzt:

Die alkoholischen Auszüge von mehreren Litern abgedampften frischen Urines wurden nach Verdunstung des Alkohols in verdünnter Schwefelsäure gelöst und mit Aether extrahirt. Die ätherischen Auszüge enthalten die neue Verbindung, welche, nachdem das Lösungsmittel bei gelinder Temperatur abdestillirt ist, gemengt mit sauren, öligen, ihre Krystallisation verhindernden Producten, zurückbleibt. Löst man den Rückstand in Wasser, filtrirt von dem ausgeschiedenen braunen Oel ab, macht das Filtrat mit kohlen saurem Natron alkalisch und schüttelt es von Neuem mit Aether aus, so erhält man nach Verdunsten desselben eine unter dem

Exsiccator allmählig zu blättrigen Krystallen erstarrende Masse, welche zur weiteren Reinigung mit basisch essigsäurem Blei behandelt und nach Entfernung des Bleiüberschusses durch Natriumcarbonat abermals mit Aether aufgenommen wird. Das so erhaltene Product war öfters noch mit etwas Harnstoff verunreinigt, von welchem es durch Zusatz einiger Tropfen von salpetersäurem Quecksilberoxyd zu der wässrigen Lösung befreit werden konnte. Die vom Hg-Niederschlag getrennte, mit Soda neutralisirte und filtrirte Flüssigkeit gab nunmehr an Aether die Substanz in nahezu reinem Zustand ab. Der nach mehrtägigem Stehen im Exsiccator krystallisirte Verdunstungsrückstand wurde, auf Thonplatten gestrichen, in wenigen Minuten von einer in geringen Mengen noch anhaftenden öligen Beimengung frei. Ein längeres Verweilen auf den Thonplatten ist insofern nachtheilig, als hierbei, wie es scheint, durch Verflüchtigung an der Luft bedeutende Verluste eintreten. Die trockenen Krystalle werden schliesslich, um sie analysenrein zu gewinnen, mit Petroläther ausgekocht, worin sie sich sehr schwer lösen und aus welchem sie sich beim Erkalten in feinen, über zolllangen, spröden Nadeln ausscheiden, oder, was vorzuziehen ist, sie werden in wenig wasserfreiem Aether oder Chloroform gelöst und durch Petroläther gefällt. Auch durch vorsichtige Sublimation kann die Substanz rein erhalten werden.

Die Untersuchung hat nun ergeben, dass die Verbindung identisch ist mit Urethan (Carbaminsäureäthylester). Ihre Eigenschaften sind folgende: Aus wasserfreiem Aether krystallisirt sie in farblosen Blättchen oder durchsichtigen Tafeln, aus heissem Petroläther beim Erkalten in seidenglänzenden feinen Nadeln. Aus concentr. Chloroformlösung, die mit Petroläther bis zu beginnender Trübung versetzt wird, scheidet sie sich allmählig in dicken prismatischen Krystallen aus. Ihr Schmelzpunkt liegt bei 50—51°. Vorsichtig erhitzt sublimirt sie unverändert, bei schnellem Erhitzen tritt Zersetzung ein. Von Wasser, Alkohol, Aether, Chloroform, Benzol wird sie äusserst leicht, von Petroläther sehr schwer gelöst. Die Verbindung ist N-haltig und entwickelt beim Kochen mit

NaOH NH_3 ; säuert man alsdann die alkalische Lösung an, so entweicht CO_2 . Löst man die Substanz im Reagensgläschen in Barytwasser, so bleibt dieses zunächst klar, giebt aber bei einmaligem Aufkochen sofort einen voluminösen, krystallinischen Niederschlag von kohlens. Baryum, während gleichzeitig ein deutlicher Geruch nach NH_3 auftritt. Diese Reaction brachte mich zuerst auf die weiterhin bestätigte Vermuthung, dass eine Carbaminsäureverbindung vorlag; sie ist sehr gut geeignet zur ersten Orientirung über die Anwesenheit von Urethan und hat sich in den folgenden Untersuchungen über das Vorkommen dieser Substanz im Harn als vortrefflicher Wegweiser bewährt. Harnstoff giebt beim Kochen mit Barytwasser allerdings auch eine Trübung und Abscheidung von Ba-Carbonat, dieselbe erfolgt aber hier viel schwieriger und langsamer, als es beim Urethan der Fall ist, welches sich beim Erhitzen fast momentan zersetzt. Nur wenn letzteres sehr verunreinigt ist, kann es in geringen Mengen dem Nachweis durch die Barytprobe sich entziehen.

Analysen (der im Exsiccator über Schwefelsäure getrockneten Substanz):

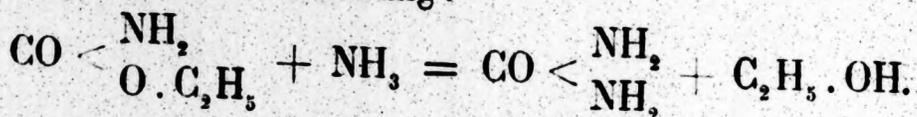
1. 0,2094 gaben: 0,3074 CO_2 und 0,1472 H_2O ,
entspr. 40,03% C und 7,79% H.
2. 0,1185 gaben 15,3 cbcm. N bei $12,5^\circ \text{C}$. und 765 mm. Ba.
N = 15,6%.
3. 0,0925 gaben 11,9 cbcm. N bei $15,5^\circ \text{C}$. und 771 mm. Ba.
N = 15,7%.

Urethan ($\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2$):

		Verlangt:	Gefunden:	
			1.	2.
C	=	40,44%	40,03	—
H	=	7,86	7,78	—
N	=	15,7	15,6	15,7

Von den zahlreichen Reactionen des Urethans, welche zur weiteren Identificirung unserer Substanz benutzt werden konnten, schienen mir die folgenden am meisten geeignet:

1. Nachweis der Aethylgruppe durch die Jodoformprobe.
2. Spaltung in Harnstoff und Alkohol durch Zersetzen mit NH_3 nach der Gleichung:



3. Bildung von Condensationsproducten mit Aldehyden (Chloral, Furfurol etc.).

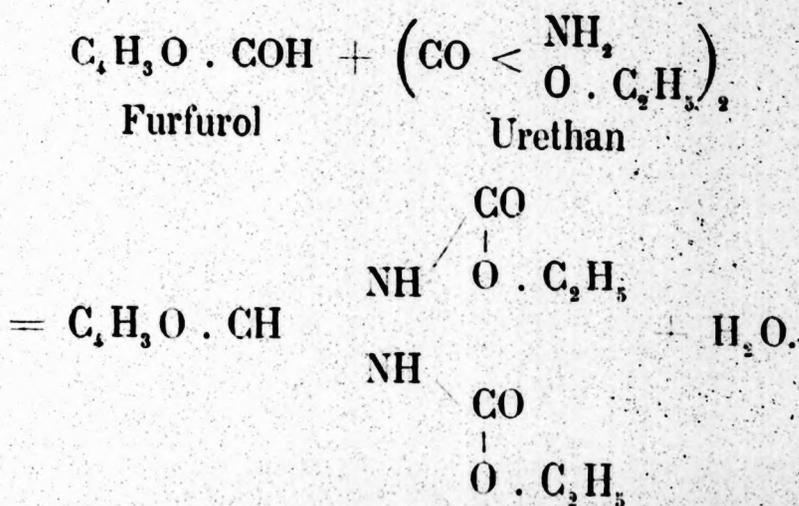
Es wurden deshalb folgende Versuche angestellt:

ad 1. 0,3 gr. Substanz in Wasser gelöst, mit 0,5 Na_2CO_3 und einigen Jodsplittern versetzt, gaben beim Erhitzen den Geruch und beim Erkalten die charakterischen Krystalle des Jodoforms.

ad 2. 0,8 gr. wurden mit ca. 10 cbem. NH_3 -Flüssigkeit im geschlossenen Rohr allmähig auf 180° erhitzt, der Röhreninhalt mit verd. Schwefelsäure neutralisirt, zum Theil abdestillirt, alsdann auf dem Wasserbade verdunstet, mit Alkohol extrahirt. Die alkoholische Lösung gab beim Verdunsten einen geringen syrupösen Rückstand, der auf Zusatz von HNO_3 keine Krystalle von salpetersaurem Harnstoff auschied. (Wahrscheinlich war der entstandene Harnstoff beim Erhitzen auf 180° zersetzt worden.)

In dem Destillat des Röhreninhalts konnte durch die Jodoformprobe und die Chromsäurereaction Alkohol mit Sicherheit nachgewiesen werden.

ad 3. 0,5 gr. wurden mit 10procentiger wässriger Furfurollösung übergossen, die klare, eventuell filtrirte Lösung mit einigen Tropfen HCl versetzt und bei niedriger Temperatur stehen gelassen. Nach kurzer Zeit erstarrte die Flüssigkeit zu einem Brei von feinen, langen, in Wasser sehr leicht löslichen Nadeln, welche abfiltrirt und getrocknet, nach einmaligem Umkrystallisiren aus verdünntem Alkohol bei 169° schmolzen und durchaus übereinstimmten mit dem Condensationsproduct, welches aus Urethan und Furfurol auf Zusatz von HCl sich bildet:



Durch alle diese Reactionen und durch die Resultate der Elementaranalyse wird die Identität der aus dem Urin isolirten Verbindung mit Urethan sicher bewiesen.

Das Vorkommen des Urethans in den Extracten des normalen Harns ist ein durchaus constantes; ich habe es aus dem Urin von Menschen, Hunden und Kaninchen ausnahmslos darstellen können, wenn nicht zu kleine Quantitäten in Angriff genommen wurden. Am reichlichsten erhält man es aus dem Hundeharn; aus der 8tägigen Harnmenge eines mit Fleisch gefütterten Hundes (ca. 7—8 Ltr. entsprechend) wurden nahe an 5 gr. reines Urethan gewonnen. In andern Fällen ist die Ausbeute zwar weniger gross, doch ist sie immerhin bei allen untersuchten Thierspecies eine so reichliche, dass es auffällig erscheint, wie die Anwesenheit dieser verhältnissmässig gut charakterisirten Verbindung bisher der Aufmerksamkeit der physiologischen Chemiker hat entgehen können.

Es musste nun zunächst untersucht werden, ob das Urethan bereits im frischen Harn enthalten ist, oder ob es sich erst bei der Verarbeitung desselben (durch Einwirkung des Alkohols auf andere Harnbestandtheile) bildet. Folgende Ueberlegung sprach a priori gegen die Präexistenz der Verbindung: Urethan ist mit den Wasserdämpfen, sowie mit den Dämpfen des Alkohols leicht flüchtig und würde, wenn es ein präformirter Bestandtheil des Harns wäre, beim Ein-

dampfen desselben und seiner alkoholischen Auszüge jedenfalls zum allergrössten Theile verloren gehen. Die bedeutenden Quantitäten, welche bei dem oben beschriebenen Verfahren gewonnen werden, könnten dann nur einen geringen Rest des ursprünglich durch die Nieren ausgeschiedenen Urethans darstellen. Es ist aber thatsächlich undenkbar, dass so erhebliche Mengen eines stark narkotischen Stoffes in dem gesunden Organismus circuliren.

Zum Nachweis des Urethans in dem frischen Harn wurde letzterer, event. nach dem Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure, mehrmals mit Aether ausgeschüttelt. Ein Vorversuch hatte ergeben, dass die geringsten Mengen Urethan, dem Urin zugesetzt (0,1 auf 500 cbcm.), demselben durch Aether entzogen werden können: nach dem Verdunsten des letzteren blieb ein Rückstand, der in der gebräuchlichen Weise gereinigt, die Barytreaction in der exquisitesten Weise gab, und aus welchem das charakteristische Furfuolderivat (Schmelzpunkt 169°) in Krystallen dargestellt wurde.

In derselben Weise sind nun wiederholt grosse Quantitäten (3—10 Ltr.) von menschlichem und Hundeharn verarbeitet worden: Die vereinigten Aetherauszüge abdestillirt, der Rückstand in etwas Wasser gelöst, mit Soda alkalisch gemacht, nochmals mit Aether aufgenommen und nach dessen Verdunstung auf die Anwesenheit von Urethan geprüft: Niemals gelang es, auch nur eine Spur dieser Substanz nachzuweisen. Wohl gab Barytwasser mitunter beim Kochen einen geringen Niederschlag von BaCO_3 ; derselbe schien aber von etwas beigemengtem Harnstoff herzurühren. Wurde letzterer durch Behandlung mit Hg-Nitrat entfernt, so trat in dem minimalen Rückstand weder die Barytreaction auf, noch gelang es, durch Zusatz von Furfurol und HCl eine Spur von Krystallen zu gewinnen. Es unterliegt somit keinem Zweifel, dass Urethan in dem frischen Harn nicht enthalten ist.

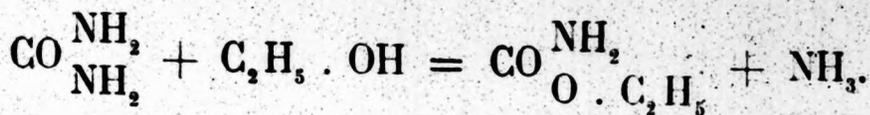
Es sei hier beiläufig erwähnt, dass auch einige pathologische Urine, unter andern der Harn eines Diabetikers, der ca. 8% Zucker enthielt und mit Eisenchlorid eine mässig in-

tensive Diacetreaction gab, mit negativem Erfolge auf Urethan untersucht worden sind.

Um zu erfahren, ob vielleicht nach reichlicher Darreichung von Alkohol im Organismus Urethan entsteht, gab ich einem grossen Hunde im Laufe eines Tages 100 cbcm. Weingeist (von ca. 93%) stark mit Wasser verdünnt: aus dem in den folgenden 24 Stunden entleerten Urin liess sich durch Behandlung mit Aether keine Spur von Urethan isoliren.

Durch weitere-Versuche wurde festgestellt, dass das Urethan, welches im frischen Urin fehlt, sich nicht beim blossen Eindampfen desselben bildet: mehrere Liter Harn, auf dem Wasserbade bis zum dünnen Syrup concentrirt, alsdann mit verdünnter H_2SO_4 angesäuert, mit Aether extrahirt und wie oben weiter verarbeitet, ergaben keine Spur von Urethan; dagegen konnte aus gleichen Quantitäten desselben Urins, nachdem sie vorher in das Alkoholextract verwandelt waren, der Carbaminsäureester krystallinisch dargestellt und durch alle seine Reactionen identificirt werden. Hieraus geht hervor, dass die Einwirkung des Alkohols für die Entstehung des Urethans unerlässlich ist, und es ergab sich ferner, dass dieselbe bei erhöhter Temperatur erheblich stärker ist, als bei niederer: heiss bereitete Alkoholextracte gaben reichliche Ausbeute an Urethan, während aus kalt bereiteter nur Spuren zu erhalten waren.

Welches ist nun der Harnbestandtheil, aus welchem unter Mitwirkung von Aethylalkohol der Carbaminsäureäther sich bildet? Es lag am nächsten, an den Harnstoff zu denken: Es ist bekannt, dass beim Erhitzen von Harnstoff, oder besser noch von salpetersaurem Harnstoff, mit Alkohol auf $120-130^\circ C$. Urethan reichlich entsteht und dass diese Reaction zur Darstellung des letzteren viel benutzt wird.



Es fragte sich nun, ob Erwärmen bei Wasserbadtemperatur in offenen Schalen, wie es bei der Isolirung aus Harn geschieht, zur Urethanbildung genügt. Es wurden in

einem Versuche 10 gr., ein anderes Mal 100 gr. reiner Harnstoff in einer grossen Menge Alkohol gelöst, die Lösung offen im Wasserbade abgedampft; der Rückstand in Wasser gelöst und in der üblichen Weise weiter behandelt, liess keine Spur von Urethan erkennen.

Dagegen erhielt ich ein positives Resultat, als eine grössere Portion (ca. 100 gr.) reinen Harnstoffs in heissem Alkohol, dem etwas Wasser zugesetzt war, gelöst und in einem Kolben mehrere Stunden auf dem Wasserbade am aufsteigenden Kühler gekocht wurde. Nach dem Erkalten wurde die von dem auskrystallisirten Harnstoff filtrirte Lösung bis auf etwa $\frac{1}{3}$ abdestillirt, der Rest in einer Schale bis zum Verschwinden des Alkohols weiter eingeengt, mit Aether extrahirt und wie oben weiter verarbeitet. Es wurde schliesslich ca. 0,2 gr. reines krystallisirtes Urethan erhalten, welches bei der Behandlung mit Furfurol und HCl 0,15 gr. des in Nadeln krystallisirenden Condensationsproductes vom Schmelzpunkt 169° gab. Der bei diesem Versuch unangegriffen gebliebene Harnstoff gab in derselben Weise behandelt eine abermalige Ausbeute von 0,2 gr. Urethan.

Ausser dem Carbaminsäureester entsteht bei dem Kochen des Harnstoffs mit Alkohol noch eine geringe Menge einer andern krystallinischen Verbindung, welche sich aus der eingeengten Aetherlösung vor völliger Verdunstung des letzteren ausschied: dieselbe ist N-haltig, in kaltem Wasser und Aether sehr schwer löslich, krystallisirt in farblosen, kleinen Nadeln, schmilzt bei 195° C., wird durch kochendes Barytwasser sofort in CO_2 und NH_3 gespalten und besteht sehr wahrscheinlich aus dem Aethylester der Allophansäure $(\text{CO} \begin{array}{c} \text{NHCO NH}_2 \\ \text{OC}_2\text{H}_5 \end{array})$. Schmelzpunkt 191°), welcher sich bekanntlich unter fast denselben Bedingungen bildet, wie das Urethan. Zu einer eingehenderen Untersuchung war leider die Menge der erhaltenen Substanz nicht ausreichend.

Es ist nach Obigem unzweifelhaft, dass die Einwirkung von Alkohol auf Harnstoff schon bei Wasserbadtemperatur

bemerkenswerthe Quantitäten von Urethan liefert, eine Thatsache, welche übrigens, wie ich nachträglich sehe, bereits von A. W. Hofmann in einer Arbeit über Biuret (Ber. d. chem. Gesellsch., Bd. 4, S. 268) erwähnt worden ist¹⁾. Hiernach ist es erklärlich, dass aus dem sehr harnstoffreichen Urin ausschliesslich mit Fleisch gefütterter Hunde verhältnissmässig viel mehr Urethan erhalten wird, als aus dem der Menschen und Kaninchen.

Vergleicht man aber die relativ bedeutenden Urethanmengen, welche im Hundeharn sich bilden, obgleich der zur Extraction dienende Alkohol nur kurze Zeit einwirkt, mit der immerhin geringen Ausbeute, welche reiner Harnstoff trotz stundenlanger Behandlung mit siedendem Alkohol liefert, so gewinnt man den Eindruck, dass bei der Entstehung des Carbaminsäureäthers im Harnextract noch andere Factoren betheiligte sind. Carbaminsäure Salze können hierbei schwerlich in Betracht kommen, denn abgesehen davon, dass ihre Anwesenheit im Harn noch nie nachgewiesen ist, würden dieselben, wenn sie im frischen Harn existirten, bei dem Eindampfen desselben jedenfalls zersetzt werden. Ausserdem wird ihre Mitwirkung, ebenso wie die des im Hundeharn reichlich vorhandenen kohlen sauren Ammoniaks, an welches man ferner denken könnte, durch einen directen Versuch ausgeschlossen: 20 gr. käuflichen kohlen sauren Ammoniaks (welches bekanntlich aus einem Gemenge von saurem Ammoniumcarbonat und carbaminsaurem Ammoniak besteht) wurde 5 Stunden lang am Rückflusskühler mit wässrigem Alkohol gekocht, ohne dass eine Spur von Urethan entstand. Allerdings gab der abdestillirte, intensiv alkalisch reagirende Alkohol eine starke Barytreaction, doch rührte dieselbe wohl von mitübergegangenen carbaminsaurem Ammoniak her, denn nach abermaliger Destillation unter Zusatz von verdünnter Schwefelsäure blieb diese Reaction aus.

¹⁾ Bei 36stündigem Erhitzen von Harnstoff mit Aethylalkohol am Rückflusskühler erhielt Hofmann nicht unerhebliche Mengen von Urethan, aber keinen Allophansäureester.

Andere Harnbestandtheile, welche als Quellen des Urethans angesprochen werden könnten, sind zur Zeit unbekannt: es ist daher die Entstehung dieses Körpers ausschliesslich auf den Harnstoff zurückzuführen. Wenn die Harnextracte grössere Quantitäten liefern, als reiner Harnstoff, so liegt dies wahrscheinlich daran, dass das im Urin enthaltene Stoffgemenge die Einwirkung des Alkohols auf den Harnstoff in unbekannter Weise begünstigt oder dass es die Verflüchtigung des Urethans beim Eindampfen des alkoholischen Auszuges erschwert.

Königsberg i. Pr., Univ.-Laboratorium f. med. Chemie.