

Zur Kenntniss der durch Phenylhydrazin fällbaren Harnbestandtheile.

Von

M. Jaffé.

(Aus dem Laboratorium für med. Chemie etc. zu Königsberg i. P.)
(Der Redaction zugegangen am 25. December 1896.)

Die häufige Anwendung des Phenylhydrazins zum Nachweise und zur Isolirung verschiedener Zuckerarten aus dem Urin lässt es wünschenswerth erscheinen, die durch jenes Reagens in normalem Harn erzeugten Niederschläge einer genaueren Untersuchung zu unterwerfen, als es bisher der Fall gewesen ist.

Der Urin gesunder Menschen gibt bekanntlich nach Erwärmen mit salzs. Phenylhydrazin und essigs. Natron, oder auch mit Phenylhydrazin und Essigsäure beim Erkalten ein Präcipitat, in welchem neben mehr weniger reichlichen sternförmig gruppirten Nadeln und dünnen Blättchen, mitunter auch kleinen stechapfelförmigen Gebilden amorphe Massen, gelbbraune oder braune Kugeln und Schollen enthalten sind. Ob die krystallinischen Bestandtheile ausschliesslich oder hauptsächlich das Hydrazinderivat des Zuckers darstellen, ob in ihnen eine entsprechende Verbindung der Glycuronsäure enthalten ist, welche nach Flückiger¹⁾ in gepaartem Zustand die reducirende Substanz des normalen Harns darstellen soll, konnte mit genügender Sicherheit noch nicht ermittelt werden. Der Niederschlag, welchen Glycuronsäure mit Phenylhydrazin erzeugt (1 Th. glycurons. Kali mit 2 salzs. Phenylhydrazin,

¹⁾ Hoppe-Seyler's Zeitschrift f. physiol. Chemie. Bd. 9.

3 Natron acet. und 20 H₂O 1 Stunde auf dem Wasserbade erwärmt), bildet nach Thierfelder¹⁾ eine feine wolkige Trübung, die aus gelben Nadeln besteht und bei weiterem Erhitzen braun wird. Den Schmelzpunkt der durch Lösung in Alkohol und Ausfällen mit Wasser gereinigten Substanz fand Thierfelder bei 114—115°, ihre Zusammensetzung C₁₂H₁₃N₁₀O₁₀.

Hirschl²⁾ erhielt bei gleicher Behandlung, aber nur 1/2-stündigem Erwärmen einen gelben wolkigen Niederschlag aus amorphen Schollen und gelben radiär angeordneten Nadeln, bei längerem Erhitzen (1/2 Stunde) braungelbe amorphe Schollen, Körnchen und stechapfelförmige Massen, vom Schmelzpunkt 107—108° C.

Bei der Untersuchung der aus grösseren Mengen normalen menschlichen Urins gesammelten Niederschläge habe ich bisher kein befriedigendes Resultat erhalten; dagegen gelang es mir, aus dem Präcipitat des Hundeharns in grösseren Mengen eine leicht krystallisirende farblose Substanz zu isoliren, welche aus einer Harnstoffverbindung des Phenylhydrazins besteht.

Phenylsemicarbazid aus Hundeharn.

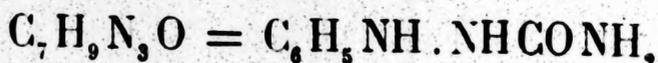
Wenn man den Urin mit Fleisch gefütterter Hunde mit Phenylhydrazin und Essigsäure ca. 2 Stunden auf dem Wasserbade erwärmt (auf je 200 cbcm. Urin ca. 10 cbcm. Phenylhydrazin und 50 proc. Essigsäure bis zu stark saurer Reaction), so erhält man bei langsamem Erkalten einen sehr reichlichen, gelben, krystallisirenden Niederschlag, der mikroskopisch fast ganz aus breiten rhombischen und sechsseitigen Blättchen und Tafeln besteht. Nach mehrmaligem Umkrystallisiren erst aus heissem Alkohol, dann aus heissem Wasser, resultirt ein völlig farbloses und einheitliches Product, dessen Schmelzpunkt bei 172° C. liegt. Die Substanz krystallisirt in Tafeln und Blättchen, ist in heissem Wasser und heissem Alkohol

¹⁾ Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 11.

²⁾ Ibidem, Bd. 14.

leicht löslich, schwer löslich dagegen in kaltem Wasser, Alkohol und Aceton. Sie reducirt Fehling'sche Lösung beim Erhitzen unter Gelbfärbung und Abscheidung orangegelber Flocken.

Die Elementaranalyse der bei 105° C. getrockneten Substanz gab folgende, mit der Formel



genaue übereinstimmende Zahlen:

1. 0,1996 gaben 0,1124 H₂O und 0,4088 CO₂.
2. 0,2015 gaben 47 chem. N bei 12° C. und 771 m. H₂.

Berechnet:	Gefunden:
C = 55,62 %	55,8 %
H = 5,96 »	6,26 »
N = 27,81 »	28,09 »

Eine Moleculargewichtsbestimmung nach der Siedepunktmethode (Beckmann) ergab die Zahl: 162, berechnet: 151.

Die Eigenschaften, Zusammensetzung und das bald zu erwähnende weitere Verhalten der Substanz beweisen ihre Identität mit einer Verbindung, welche zuerst von E. Fischer¹⁾ aus salzsaurem Phenylhydrazin und Kaliumcyanat dargestellt und Phenylsemicarbazid genannt worden ist. Die gleiche Verbindung entsteht nach Pinner²⁾ bei vierstündigem Erhitzen von 1 Mol. salzs. Phenylhydrazin mit 2 Mol. Harnstoff auf 150—160° nach der Gleichung $\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}\cdot\text{NH}_2 + \text{CO}(\text{NH}_2)_2 = \text{C}_6\text{H}_5\text{NH}\cdot\text{NHCONH}_2 + \text{NH}_3$. Skinner und Ruhemann³⁾ erhielten sie bei der Einwirkung von Phenylhydrazin auf Urethan. Bei einem Ueberschuss des ersteren (2 Molecüle auf 1 Molecül Urethan entsteht dagegen Diphenylcarbazid:

$\text{CO} \begin{matrix} \text{NHNH}\cdot\text{C}_6\text{H}_5 \\ \text{NHNH}\cdot\text{C}_6\text{H}_5 \end{matrix}$, eine in heissem Wasser schwer lösliche, in Alkohol leicht lösliche Verbindung, welche bei 151° schmilzt und mit NH₃ sich tief roth färbt. Beim Erhitzen von Phenyl-

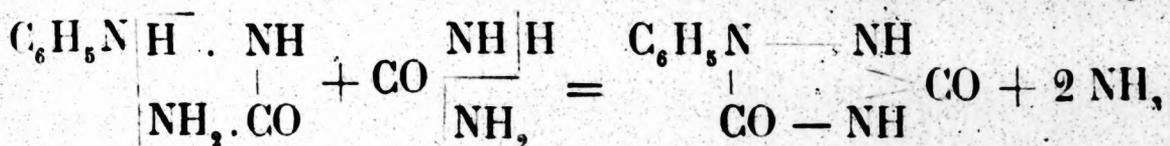
1) Liebig und Wöhler's Annalen, Bd. 190, S. 130.

2) Ber. der deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 20, S. 2359.

3) Ber. d. dtsh. chem. Ges., 20, S. 3372.

semicarbazid mit 2 Theilen Harnstoff auf 160° erhielt Pinner¹⁾ das Phenylurazol: $\left(\text{C}_6\text{H}_5\text{N} \begin{array}{l} \text{NH} \cdot \text{CO} \\ \text{CO} \cdot \text{NH} \end{array} \right)$, welches in Blättchen krystallisirt, bei $262\text{--}265$ schmilzt, in kaltem Wasser fast unlöslich ist, leichtlöslich dagegen in heissem Wasser und in Alkalien, Kupferoxyd nicht reducirt, durch Kochen mit Alkalien und durch salpetrige Säure (im Gegensatz zu Phenylsemicarbazid) nicht angegriffen wird.

Die Umwandlung geschieht nach folgender Gleichung:



Phenylurazol entsteht auch bei der Einwirkung von Phenylhydrazin auf Biuret (Skinner und Ruhemann *ibid.* Pinner, Bd. 21, S. 1220).

Fischer charakterisirt das Phenylsemicarbazid durch folgende Zersetzungen: Durch rauchende ClH wird es beim Erhitzen in CO_2 , NH_3 und Phenylhydrazin gespalten. Die salzsaure Lösung der Verbindung scheidet auf Zusatz von Natriumnitrit ein in farblosen Blättchen krystallisirendes Nitrosoderivat aus, welches durch Zinkstaub wieder in Phenylsemicarbazid, beim Kochen mit Alkalien aber in Diazobenzolimid, CO_2 und NH_3 übergeht.

Die von mir aus dem Hundeharn dargestellte Verbindung zeigte nun das gleiche Verhalten:

1. ca. 1 gr. der Krystalle wurden mit conc. ClH im geschlossenen Rohr auf 100° C. erhitzt: Beim Oeffnen des Rohres Gasentwicklung: die abgedampfte salzsaure Lösung hinterliess Krystalle von dem Aussehen und den Reactionen des salzs. Phenylhydrazins (Reduction alkal. Kupfersulphatlösung in der Kälte). Ein Theil der verdünnten salzsauren Lösung mit Na-Lauge übersättigt, liess den Geruch des NH_3 erkennen.
2. ca. 1 gr. der Substanz in Wasser und etwas ClH gelöst, gab auf Zusatz einer conc. Lösung von NaNO_2 sofort einen krystallinischen Niederschlag, der abfiltrirt, mit Zinkstaub erwärmt, sich in Phenylsemicarbazid zurückverwandelte, welches nach dem Umkrystallisiren durch seinen Schmelzpunkt (172°) identificirt wurde.

Hiernach scheint mir die völlige Uebereinstimmung des aus dem Harn gewonnenen Derivats mit Phenylsemicarbazid

¹⁾ *Ibidem* Bd. 20, S. 2360.

hinreichend sicher gestellt und glaubte ich von weiteren Beweisen (z. B. Umwandlung in Phenylurazol durch Erhitzen mit Harnstoff) Abstand nehmen zu dürfen.

Es ist bemerkenswerth, dass das Harnstoffderivat des Phenylhydrazins, welches Pinner durch längeres Erhitzen des letzteren mit trockenem Harnstoff auf $150-160^{\circ}$ darstellte, aus dem Urin direct bei Wasserbadtemperatur gewonnen werden kann. Ich suchte festzustellen, ob eine wässrige Lösung von reinem Harnstoff sich ebenso verhält und wie weit sie verdünnt werden kann, bis die Ausscheidung des Phenylsemicarbazids ausbleibt. Hierbei zeigte es sich, dass eine 10proc. Lösung von reinem Harnstoff beim Erwärmen mit Phenylhydrazin und Essigsäure (in denselben Mengen zugesetzt wie bei den Harnversuchen) einen mächtigen krystallinischen Niederschlag gab und dass derselbe auch bei Verwendung einer 5proc. Harnstofflösung noch sehr reichlich ausfiel. Auch aus 3proc., selbst 2proc. Lösung erfolgte noch eine Krystallisation des Semicarbazids. Die aus Harnstofflösung abgeschiedene Verbindung war mit der aus dem Harn gewonnenen absolut identisch, was ihr Schmelzpunkt (171 bis 172°) und das Resultat einer N-Bestimmung bewies.

0,1993 gr. bei 105° getrocknet gaben 45,8 ccm. N bei 8° C. ca. 775 B
 $= 28,3^{\circ}\text{ }_0$ N (verlangt $27,81^{\circ}\text{ }_0$).

Wenn man bei der Fällung einen erheblichen Ueberschuss an Phenylhydrazin anwendet und nach dem Erhitzen hinreichend lange (1—2 Tage) bei kühler Temperatur stehen lässt, so erhält man selbst aus verdünnten Harnstofflösungen eine nahezu quantitative Ausscheidung des Phenylsemicarbazids, wie sich aus folgenden Zahlen ergibt (das Semicarbazid wurde nicht umkrystallisirt, sondern blos mit Wasser ausgewaschen und lufttrocken gewogen):

1. 50 ccm. 10proc. Urlösung, 10 ccm. Phenylhydrazin mit Essigsäure stark angesäuert, 3 Stunden im Wasser erhitzt, ergaben 10,1 gr. Semicarbazid (ber. 12,6 gr.) $= 80^{\circ}\text{ }_0$.
2. 50 ccm. 5proc. Urlösung, 10 ccm. Phenylhydrazin ebenso behandelt, gaben 7,17 gr. (ber. 6,3 gr.) $=$ ca. 112° _0 .

3. 50 ccm. 2proc. Urlösung, 10 ccm. Phenylhydrazin ebenso behandelt gaben 2,12 gr. (ber. 2,51 gr.) = 84,8 %.

Durch weitere Untersuchungen sind die für die vollständige Ausfällung günstigsten Bedingungen noch zu ermitteln und unter Berücksichtigung derselben wird sich voraussichtlich der Semicarbazidniederschlag auch aus harnstoffärmerem Menschenharn gewinnen lassen.

Durch das oben erwähnte Verfahren (je 200 ccm. Urin mit 10 ccm. Phenylhydrazin und 50proc. Essigsäure bis zu stark saurer Reaction 2 Stunden erwärmt) scheidet er sich in reichlicher Menge nur aus dem harnstoffreichen Hundeharn nach eiweissreicher Kost (Fleisch- oder Leimfütterung) aus. Aus dem Harn mit Brod oder Milch gefütterter Hunde habe ich ihn nicht erhalten, ebensowenig aus menschlichem Urin bei gemischter Kost. Der bei Brodfütterung ausgeschiedene Niederschlag zeigte dieselbe mikroskopische Beschaffenheit, wie das Phenylhydrazinpräcipitat des Menschenharns.

E. Fischer¹⁾ hat ein dem Phenylsemicarbazid entsprechendes Derivat des Aethylharnstoffes: das Aethylphenylsemicarbazid $C_6H_5NH.NHCONH(C_2H_5)$ aus Isocyan säureäther und Phenylhydrazin dargestellt. Dasselbe ist durch eine charakteristische Reaction ausgezeichnet: die wässrige Lösung mit Fehling'scher Flüssigkeit versetzt gibt eine blauschwarze Lösung und eben solchen Niederschlag. In geschlossenem Glase geht die blaue Farbe in gelb über, wird aber beim Schütteln mit Luft wieder blau. Beim gelinden Erwärmen der Lösung erfolgt schliesslich vollständige Zersetzung und Abscheidung von Kupferoxydul.

Ich versuchte dieses Verhalten für den Nachweis etwa vorhandenen substituirten Harnstoffes im Urin zu verwerthen, doch ist es mir nicht gelungen, im Harn eines Hundes nach mehrtägiger Darreichung von citronensaurem Aethylamin den hiernach entstandenen Aethylharnstoff durch die Phenylhydrazinbehandlung zu isoliren.

¹⁾ Liebig's Annalen. Bd. 190, S. 109.