

Ueber Löslichkeitsverhältnisse von Osazonen.

Von
Carl Neuberg.

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts zu Berlin.)
(Der Redaction zugegangen am 15. Februar 1900.)

In letzter Zeit sind nicht nur im Harn, sondern auch in den verschiedensten Organen des Thierkörpers neue Kohlehydrate gefunden und zum Theil in Form ihrer Osazone isolirt. Das Arbeiten mit diesen Zuckern oder ihnen nahestehenden Derivaten wird, abgesehen von ihrer Empfindlichkeit, vielfach noch durch den Umstand erschwert, dass die Ausbeuten an Hydrazinverbindungen häufig auffallend klein sind, und manche mühevollen Untersuchung auf diesem Gebiet erfährt durch Materialmangel einen unerwünschten Abschluss.

Eine Untersuchung über den Grund dieser geringen Ertragsfähigkeit schien daher um so wünschenswerther, da man hoffen durfte, nach Erkennung desselben die Ausbeuten bessern zu können.

Die Ursache der erwähnten Erscheinung glaubte ich nun in der Veränderung der Löslichkeitsverhältnisse suchen zu müssen, welche die unter normalen Bedingungen schwer löslichen Osazone in dem complicirten Substanzgemisch der dem Organismus entstammenden Flüssigkeiten erfahren. Die Richtigkeit dieser Annahme liess sich in der That zunächst am Harn experimentell erweisen.

Wir verdanken nämlich Maquenne¹⁾ Angaben über die Osazonmengen, welche die verschiedenen Zuckerarten unter strenger Einhaltung ganz bestimmter Bedingungen liefern. Erwärmt man die Lösung von 1 g Kohlehydrat in 100 cem.

¹⁾ A. Maquenne, Comptes rendus 112. 799.

Wasser mit 5 ccm. einer Phenylhydrazinacetatlösung, die 40 g Hydrazinbase und 40 g Eiessig in 100 ccm. Wasser enthält, eine Stunde im siedenden Wasserbad, sammelt den entstandenen Niederschlag auf einem gewogenen Filter oder Gooche-Tiegel, wäscht ihn mit 100 ccm. Wasser aus und trocknet bei 100°, so liefern die verschiedenen Zucker constante, von einander erheblich abweichende Osazonmengen, die von der Löslichkeit und Bildungsdauer des betreffenden Osazons abhängen.

Man findet so:

für Maltose	0,11 g Osazon
» Lactobiose	0,11 »
» Rhamnose	0,15 »
» d-Galactose	0,23 »
» l-Arabinose	0,27 »
» d-Glucose	0,32 »
» l-Xylose	0,40 »
» d-Lävulose	0,72 »
» Sorbinose	0,82 »

Ersetzt man nun in der Maquenne'schen Versuchsanordnung unter Beibehaltung aller übrigen Factoren die 100 ccm. Lösungswasser für das Kohlehydrat durch eben so viel Harn, so findet man für die d-Glucose und d-Lävulose, die allein zur Prüfung verwandt wurden, eine nicht unerhebliche Verminderung der Osazonmenge.

Versuch I. 1 g Traubenzucker gelöst in 100 ccm. Harn. Specificsches Gewicht 1014 und Gehalt an Stickstoff¹⁾ = 0,82%. Man erhält 0,186 g Osazon, d. i. 58,1% der aus reiner wässriger Lösung erhältlichen Menge.

Versuch II. 1 g Fruchtzucker, gelöst in 100 ccm. vom selben Harn. Man gewinnt 0,432 g Osazon, d. i. 60,0% der Menge Maquenne's.

War die zuvor geäußerte Ansicht richtig, dass ein Gehalt der aus dem Organismus stammenden Flüssigkeiten an Bestandtheilen irgend welcher Art die Verminderung der Osazonausbeute zur Folge habe, so musste ein Harn, der an solchen Substanzen reicher als der zu den Versuchen I und II verwandte war, d. h. ein solcher von grösserer Dichte, noch

¹⁾ In diesen wie den folgenden Bestimmungen nach Kjeldahl ermittelt.

weniger Osazone liefern. Dass dem in der That so ist, zeigen der

Versuch III. 1 g Traubenzucker gelöst in 100 ccm. Harn vom specifischen Gewicht 1043 und Stickstoffgehalt = 2,14% gibt 0,138 g Osazon, d. i. 43,4% der unter den von Maquenne gewählten Bedingungen möglichen Menge;

und

Versuch IV. 1 g Fruchtzucker, gelöst in 100 ccm. von dem zu Versuch III verwandten Harn. Man erhält 0,348 g Osazon, d. i. 48,3% der Ausbeute Maquennes.

Dieses Ergebniss ist um so auffallender, da man a priori bei einer dichterem, in den beschriebenen Fällen an gelösten Substanzen reicheren Flüssigkeit eine grössere «aussalzende Wirkung» voraussetzen könnte.

Der hohe Gehalt des Urins an Ammoniakabkömmlingen wie auch das Ergebniss der zur Charakterisirung der angewandten Harnen vorgenommenen Stickstoffbestimmungen erweckten bei mir die Vermuthung, in einem Gehalt an osazonlösenden Stickstoffderivaten die Erklärung für die erwähnten Erscheinungen zu suchen. Die im Folgenden beschriebenen Versuche über die Wirkung etlicher Stickstoffabkömmlinge auf Osazone bestätigten diese Annahme.

Während wässrige Alkalilösungen in der Kälte ohne Wirkung auf Osazone sind, wie Will¹⁾ gezeigt hat, vermögen sie einige derselben nach Lintner²⁾ bei Siedehitze zu zersetzen, und zwar in dem Sinne, dass unter Sprengung der Kohlenstoffkette des Zuckers die beiden Kohlenstoffatome, welche mit dem Hydrazinrest verbunden sind, mit diesem verknüpft als Dihydrazon des Glyoxals oder Osazon des Glyco-

aldehyds $\begin{matrix} \text{CH:N--NRR}' \\ \text{CH:N--NRR}' \end{matrix}$ abgespalten werden.

Ammoniak, Amine Ammoniumderivate zeigen nun dieses Verhalten nicht, dagegen ist den genannten Verbindungen sämmtlich ein mehr oder minder erhebliches Lösungsvermögen für Osazone — und weiterhin auch für Hydrazone und Hydrazide

1) Will. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft XXIV. 402

2) C. I. Lintner, Chem. Zeitschr. 20. 763.

— eigen. Dabei zeigt sich nun, dass kaum ein Unterschied in der Leichtigkeit besteht, mit der Phenyl-osazone oder Substitutionsprodukte derselben, wie Brom-, Nitro-, Methylphenyl-, etc., von ein und demselben Ammoniakderivat aufgenommen werden. Auch die Anzahl der Kohlenstoffatome des Zuckers ist ohne wesentlichen Einfluss auf die Löslichkeit seiner Osazone in dem gleichen Lösungsmittel der genannten Art. So werden die Osazone der Hexosen und die der Disaccharide ohne erkennbaren Unterschied, die Pentosazone dagegen etwas leichter als die ersteren, analog ihrem bekannten Verhalten zu Wasser und Alkohol aufgenommen,¹⁾ die Osazone der niederen Zuckerarten — Glycerosazon und Glycolaldehydosazon — aber wieder etwas schwerer.

Eine erhebliche Verschiedenheit zeigen nun die Ammoniakderivate in ihrem Lösungsvermögen für Osazone untereinander. Wässriges Ammoniak und Hydrazinhydrat besitzen nur geringe Lösungsfähigkeit, doch steigt diese sofort bei der Substitution eines Wasserstoffatoms der Stickstoffbase durch organische Radikale, und dabei ist leicht eine Abhängigkeit von der Art und Anzahl der Substituenten bemerkbar.

In der aliphatischen Reihe wächst das Lösungsvermögen mit der Zahl der Substituenten, da Trimethylamin mehr Osazon aufzunehmen vermag als Dimethylamin, dieses wieder mehr als Monomethylamin; ebenso verhalten sich Aethylhydrazin und Hydrazinhydrat zu einander. In der aromatischen Reihe macht sich dieser Einfluss der Zahl der eingetretenen Radikale nicht geltend, wohl aber ist hier die Lösungsfähigkeit im Vergleich zur aliphatischen Reihe erheblich vergrössert.

So nehmen Anilin, Methylanilin und Dimethylanilin einerseits und Phenylhydrazin und Methylphenylhydrazin andererseits angenähert gleich grosse, nicht unbedeutliche Mengen

1) Diese Löslichkeitsbestimmungen wurden so ausgeführt, dass augenscheinlich gleiche Substanzmengen in gleich grosse Reagensgläser gefüllt wurden und die erforderliche Quantität Lösungsmittel als Maassstab ihrer Löslichkeit diente. Diese wurde ziffernmässig nur für d-Phenylglucosazon in Pyridin ermittelt und ergab, dass sich etwa 0,25 g Osazon in kaltem und ungefähr 0,6 g in 1 g heissem Pyridin lösen.

Osazon auf. In beiden Reihen, der aliphatischen wie aromatischen, verhalten sich die Homologen so wie die niedrigsten Glieder, wenigstens kann man kaum einen Unterschied zwischen den Methyl- und Aethylaminen, zwischen Methyl- und Aethylanilinen, zwischen Anilin, Toluidinen und Xylidinen oder zwischen Phenylhydrazin, geschmolzenem Toluylhydrazin und Diphenylhydrazin in ihrer Wirkung auf Osazone erkennen.

Auch die Derivate des fünfwerthigen Stickstoffs verhalten sich durchaus den genannten Verbindungen ähnlich. So besitzen die Salze — sowohl die mit anorganischem wie organischem Säurerest — der sämtlichen genannten Verbindungen ein wenn auch theilweise geringes Lösungsvermögen für Osazone, das auch den quaternären Ammoniumbasen und ihren Salzen zukommt.

Eine besonders grosse Aufnahmefähigkeit für Osazone besitzen die cyklischen Amine und ihre Derivate, wie am Piperidin, Pyrrol, Diaethylendiamin (Piperazin), Collidindicarbonsäureester, Chinolin und Pyridin festgestellt wurde. Ueber die werthvollen Eigenschaften gerade der letztgenannten Base in ihrem Verhalten zu Osazonen ist schon an anderer Stelle berichtet.¹⁾

Auch die Amidosäuren, wie Glycocoll, Alanin, Leucin, Tyrosin und die Hippursäure, nehmen Osazone in heisser wässriger Lösung auf und scheiden sie in der Kälte weder auf Zusatz von Alkali noch Säure wieder aus.

Gleichfalls nehmen Säureamide, wie Formamid und Acetamid, wasserfrei und in wässriger Lösung, erhebliche Mengen Osazon auf, das in der Kälte in meist gut ausgebildeten Krystallen wieder ausfällt.

Aehnlich verhalten sich Harnstofflösungen, doch geben diese das gelöste Osazon erst nach Zerstörung des Carbamids durch Alkalinitrit und Säure wieder ab.

Das Lösungsvermögen für Osazone ist jedoch keineswegs an die mehr oder weniger hervortretenden basischen Eigen-

¹⁾ C. Neuberg. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft XXXII, S. 3384—3388.

schaften der angewandten Solventien geknüpft, wie das Verhalten der Nitrile und Senföle beweist. Denn Acetonitril, Milchsäurenitril, Benzonitril, Benzylcyanid (Phenyllessigsäurenitril), Allylsenföl und Phenylsenföl nehmen sämtlich nicht unerhebliche Mengen Osazon auf, das sich aus heiss gesättigter Lösung meist gut krystallisirt wieder abscheidet.

Ebenso wie die erwähnten Stickstoffderivate, die meist flüssig oder leicht in Wasser löslich sind, verhalten sich die alkoholischen Lösungen ihnen nahe stehender Verbindungen. So nehmen alkoholische Lösungen von Diphenylamin, Benzidin, α - und β -Naphthylamin, *p*-Bromphenylhydrazin etc. mehr Osazon auf, als ihrem Alkoholgehalt entspricht.

Die dargelegten Verhältnisse sind in der That geeignet, Aufschluss über das Verhalten von Phenylhydrazin zu Kohlehydratlösungen zu geben, die neben wenig Zucker viel Stickstoffderivate von gleicher oder ähnlicher Art, wie die genannten, enthalten. Der Gehalt des Harns an Harnstoff, Ammonsalzen und anderen Stickstoffverbindungen erklärt zwanglos die Ergebnisse der zu Anfang beschriebenen Versuche I bis IV und auch die oft gemachte Beobachtung, dass man aus diabetischem Harn stets erheblich weniger Glucosazon zu isoliren vermag, als dem durch Polarisation oder titrimetrisch ermitteltem Zuckergehalt entspricht und man aus reinen wässerigen Lösungen von gleicher Concentration gewinnen kann.

Ganz ebenso liegen die Verhältnisse bei Fällen von Pentosurie und bei Harnen, in die auf alimentärem oder künstlichem Wege ein osazonlieferndes Kohlenhydrat gelangt ist.

Den Herren F. Blumenthal und P. Mayer verdanke ich die Mittheilung, dass sie eine analoge Beobachtung bei ihren Versuchen über die Abspaltung einer Hexose aus Albumin¹⁾ machten. Diese Forscher arbeiteten unter Bedingungen, die neben der Loslösung der Kohlehydratgruppe aus dem Eiweissmolekül die Bildung reichlicher Mengen Amidosäure zur Folge hatten. Sie vermochten auch hier nur bedeutend weniger Osazon

¹⁾ F. Blumenthal und P. Mayer, Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XXXII, 274—278.

zu isoliren, als der Ausfall der Titration erwarten liess, und unter Verhältnissen, wo zwar die Menge des abgespaltenen Zuckers, aber mit ihm auch die der Amidosäuren und verwandter Körper vergrössert wurde, wuchs die Schwierigkeit der Osazongewinnung mit der Zunahme der entstehenden Stickstoffkörper.

In allen diesen Fällen findet die unvollständige Abscheidung der Osazone in den vorerwähnten Löslichkeitsverhältnissen eine ausreichende Erklärung.

Die Erkenntniss, dass durch die Gegenwart sehr vieler Stickstoffderivate in Folge der diesen Körpern eigenen osazonlösenden Kraft die Ausbeute an Hydrazinverbindung beeinträchtigt wird, wies den Weg, wie man diese unliebsame Wirkung in einigen Fällen bis zu einem gewissen Grade vermindern kann.

Die Verschiedenartigkeit der in Betracht kommenden Stickstoffabkömmlinge verbietet naturgemäss die Anwendung eines durchweg brauchbaren Verfahrens und zwingt zu einer Entscheidung von Fall zu Fall.

Bei der Verarbeitung von Organauszügen oder Eiweisspaltungsprodukten, wo die störenden Substanzen vorwiegend von salzbildender Natur (Amidosäuren) sind, kann man versuchen, dieselben durch Fällung als Metallverbindungen mittelst Silber-, Blei-, Kupfer- oder Erdalkalisalzen aus der Lösung zu entfernen. Beim Harn gelingt es zuweilen, die Ausbeuten an Hydrazinverbindungen zu steigern, wenn man vor Beginn ihrer Darstellung das Carbamid vorsichtig durch Alkalinitrit und Essigsäure zerstört und dann die in der Flüssigkeit gelösten Gase durch kurzes Erwärmen austreibt.

In allen Fällen aber, wo die Menge des Kohlehydrats gering ist, empfiehlt es sich, sorgfältig einen unnötigen Ueberschuss an Hydrazin bei der Osazonbereitung zu vermeiden und die anzuwendende Menge thunlichst nach dem Ausfall der Polarisation oder Titration zu bemessen, vor allem aber im Verlauf der Operation eine Zunahme von Stickstoffderivaten irgend welcher Art hintanzuhalten.