

Bildung von Tribenzamid bei der Benzoylierung des Harns.

Von

Alexander Ellinger und Otto Riesser.

(Aus dem Universitätslaboratorium für medizinische Chemie und experimentelle
Pharmakologie zu Königsberg i. Pr.)

(Der Redaktion zugegangen am 16. August 1909.)

Garrod und Hurltley¹⁾ beschrieben vor einigen Jahren eine in farblosen Nadeln krystallisierende, in Alkohol schwer lösliche, bei 201—205° schmelzende Substanz, welche sie bei der Benzoylierung eines Cystinuriker-Harns nach Schotten-Baumann in geringen Mengen erhalten hatten. Die Spärlichkeit des Materials, welches den Autoren zur Verfügung stand, gestattete nur eine Elementaranalyse, deren Resultate sie selbst mit Vorsicht verwertet wünschten. Sie fanden 75,67% C, 4,5% H, 4,8% N und sprachen unter Reserve die Vermutung aus, daß hier das Benzoylprodukt eines Tryptophanderivats, vielleicht Benzoylkynurin vorliege, für welches 77,1% C, 4,4 H, 5,6 N die berechneten Zahlen wären.

Angesichts der Bedeutung, welche dem Nachweis von Kynurin im Harn von Cystinurikern für die Pathologie des Eiweißstoffwechsels zukäme, suchten wir zunächst die Vermutung von Garrod und Hurltley dadurch zu bestätigen oder zu widerlegen, daß wir die von ihnen beschriebene Substanz mit dem noch nicht dargestellten Benzoylkynurin verglichen. Alle unsre Versuche, Kynurin zu benzoylieren, waren aber erfolglos; sie führten nur, wie an anderer Stelle²⁾ genauer ausgeführt wird, zu dem unerwarteten Resultat, daß beim Kochen von Kynurin mit Benzoylchlorid nicht die Benzoylgruppe in das

¹⁾ Journ. of physiol. Bd. XXXIV, S. 217 (1906).

²⁾ Eine Notiz über die Einwirkung von Benzoylchlorid auf Oxychinoline erscheint gleichzeitig in den Berichten d. deutsch. chem. Ges.

Molekül eintritt, sondern daß das Hydroxyl des Kynurins durch Chlor ersetzt wird.

Nachdem durch die Unmöglichkeit, Kynurin nach Schotten-Baumann zu benzoylieren, die Annahme, daß sich ein Kynurinerester unter den Benzoylierungsprodukten eines Harns fände, unwahrscheinlich geworden war, suchten wir weitere Aufschlüsse über die Natur der beschriebenen Substanz zu gewinnen. Eine Durchsicht der Analysenzahlen zeigte uns, daß sie, wenn auch nicht scharf, so doch besser zu der Formel $C_{21}H_{15}O_3N$ als zu der des Benzoylkynurins stimmten.

Ber. für $C_{21}H_{15}O_3N$	Gef. von G. u. H.	Ber. für $C_{16}H_{11}NO_2$ (Benzoylkynurin)
C = 76,59	75,67	77,1
H = 4,56	4,4	4,4
N = 4,25	4,8	5,6

Die Formel $C_{21}H_{15}O_3N$ kommt dem von Curtius¹⁾ zuerst aus Benzamidnatrium und Benzoylchlorid dargestellten Tribenzamid $(C_6H_5CO)_3N$ zu, welches nach M. Jaffé²⁾ auch beim Stehen von Benzoylchlorid mit trockenem Ammoncarbonat entsteht. Der Schmelzpunkt dieser Substanz liegt bei 201—202° (korr.), sie krystallisiert in Nadeln und ist in Wasser und Alkohol schwer löslich. Die Eigenschaften stimmen also mit dem Körper von Garrod und Hurtle³⁾ überraschend gut überein, und die Möglichkeit, daß sich Tribenzamid bei der Benzoylierung von Harn bilden kann, ist von vornherein gegeben.

Wir untersuchten deshalb zunächst, ob sich die fragliche Substanz nicht bei der Benzoylierung eines beliebigen Harns gewinnen lasse. Gleich der erste Versuch war erfolgreich: 1½ Liter von verschiedenen Patienten der medizinischen Klinik stammender Mischharn wurden mit 200 ccm 10%iger Natronlauge und 25 ccm Benzoylchlorid in der Schüttelmaschine 1—2 Stunden geschüttelt. Der Niederschlag der Benzoylverbindungen wurde abfiltriert, über Nacht mit dem Filter auf einer Tonplatte ausgebreitet und mit etwa 100—150 ccm Alkohol am Rückflußkühler 1 Stunde auf dem Wasserbade ausgekocht. Die gelbbraune alkoholische Lösung wurde vom Ungelösten abfiltriert, mit wenig Tierkohle gekocht und nach dem

¹⁾ Berichte d. deutsch. chem. Ges. Bd. XXIII, S. 3041 (1890).

²⁾ Berichte d. deutsch. chem. Ges. Bd. XXV, S. 3120 (1892).

Abfiltrieren von der Kohle auf ein Volumen von einigen Kubikzentimetern eingeengt. Beim Erkalten schieden sich seidenglänzende weiße Nadeln ab, welche nach einmaligem Umkrystallisieren aus Alkohol bei 203° schmolzen. Die Ausbeute betrug etwas mehr als 0,03 g. Nach dem Ausfall dieses Versuches schien es nur mehr nötig, genügende Harnmengen zu benzoylieren, um die Frage nach der Identität unseres Produktes mit Tribenzamid zu entscheiden. Wir erlebten aber die unangenehme Enttäuschung, daß bei keiner einzigen späteren Verarbeitung die Ausbeute annähernd so gut war wie bei der ersten. Wir haben im ganzen 15—20 Portionen Harn von je $1\frac{1}{2}$ Liter benzoyliert, wir verwandten normale und pathologische Urine, frisch und nach dem Stehen bis zum Eintritt ammoniakalischer Gärung; wir variierten den Zusatz von Benzoylchlorid und von Natronlauge und setzten zu einigen Portionen noch Ammoniak zu; aber es gelang stets nur minimale Mengen der charakteristischen Krystalle zu erhalten. Erst beim Einengen der mit Tierkohle gekochten alkoholischen Lösung bis zum Sirup schieden sich die Krystalle beim Verrühren mit wenig kaltem Alkohol ab. Sie fanden sich aber in jeder Portion in minimaler Quantität und die gesammelten Produkte konnten schließlich abfiltriert werden. Ihre Menge genügte gerade, um einen Schmelzpunkt zu nehmen, zum Umkrystallisieren reichte das Material nicht aus. Das Rohprodukt schmolz bei 199° .

Da nach den beschriebenen Erfahrungen die Aussicht auf die Gewinnung von Quantitäten, welche zur Elementaranalyse ausgereicht hätten, sehr gering war, versuchten wir die kleine Menge reiner Substanz, die wir in Händen hatten, zur Identifizierung zu benutzen.

0,0248 g Substanz wurden mit viel konzentrierter Kalilauge destilliert und das Destillat in $n/20$ - H_2SO_4 aufgefangen. Das Destillat neutralisierte 1,2 ccm $n/20$ - H_2SO_4 , entsprechend 1,02 mg NH_3 statt der berechneten 1,28 mg. Das titrierte Destillat wurde nochmals aus alkalischer Lösung destilliert und in HCl aufgefangen. Die stark eingeengte salzsaure Lösung gab mit Platinchlorid eine Ausscheidung von Platinsalmiak, der die charakteristischen Oktaeder unter dem Mikroskop zeigte.

Der Inhalt des Destillationskolbens, aus welchem das Ammoniak abdestilliert war, wurde mit Schwefelsäure angesäuert und erschöpfend mit Äther extrahiert. Der im wesentlichen krystallinische Ätherrückstand wurde mit Wasser aufgenommen, mit Phosphorsäure angesäuert und im Dampfstrom destilliert, bis etwa 2 Liter Destillat übergegangen waren. Das Destillat wurde wiederum mit Äther ausgeschüttelt; der Ätherrückstand, im Kolben gewogen, betrug 0,0322 g. Er wurde mit n_{10} -KOH aufgenommen, worin ein kleiner Teil ungelöst blieb, und mit n_{10} -H₂SO₄ titriert. Die Titration ergab einen Verbrauch von 1,9 ccm n_{10} -KOH, entsprechend 0,02318 g Benzoessäure statt der berechneten 0,0276 g. Um die Benzoessäure zu identifizieren, wurde die titrierte Lösung nochmals mit Phosphorsäure angesäuert, im Dampfstrom destilliert und wie vorher behandelt. Der Ätherrückstand, der jetzt 0,0305 g wog, wurde aus Wasser einmal unkrystallisiert. Die in Blättchen krystallisierende Substanz schmolz bei 120° (F. P. der Benzoessäure 121,5°). Sie gab in neutraler Lösung Fällung mit Eisenchlorid, sublimierte trocken erhitzt und gab die Lückesche (Nitrobenzol-)Reaktion.

Um den Nachweis der Identität der Substanz aus dem Harn mit dem Tribenzamid noch weiter zu stützen, wurden ihre krystallographischen Eigenschaften mit denjenigen von synthetisch nach Jaffé dargestelltem Tribenzamid verglichen. Herr Prof. Bergeat hatte die große Freundlichkeit, die Untersuchung auf unsere Bitte auszuführen. Wir sprechen ihm dafür auch an dieser Stelle unsern verbindlichsten Dank aus. Eine Messung der Krystalle und eine Beobachtung des Achsenbildes waren unausführbar, weil die Krystallindividuen zu klein waren. Im übrigen waren die Resultate der mikroskopischen Untersuchung folgende:

	Synthetisches Tribenzamid.	Substanz aus Harn.
Lichtbrechung:	> Canadabalsam	> Canadabalsam
Auslöschung:	gerade	gerade
Krystallsystem:	hexagonal oder tetragonal oder rhombisch, nicht re- gulär und höchst wahr- scheinlich nicht monoklin oder triklin	} } dsgl.

	Synthetisches Tribenzamid.	Substanz aus Harn.
Ausbildung:	langnadelförmig, manchmal zu Büscheln verwachsen	langnadelförmig, fast nur büschel- und garbenförmig verwachsen.
Optischer Charakter der Hauptzone:	stets negativ	stets negativ
Größe der Doppelbrechung (bestimmt aus der Höhe der Interferenzfarben mit Rücksicht auf die Dicke der Nadeln)	ungefähr 0,025	ungefähr 0,025.

In allen untersuchten Eigenschaften zeigten also beide Substanzen die größte Ähnlichkeit.

Aus der im vorstehenden geschilderten Übereinstimmung der chemischen und physikalischen Eigenschaften darf wohl der Schluß gezogen werden, daß die in so geringer Menge gewonnene Substanz aus dem Harn Tribenzamid ist, und es muß als höchst wahrscheinlich bezeichnet werden, daß auch Garrod und Hurtlely die gleiche Substanz in Händen hatten.

