

485. M. Jaffe: Ueber die Einwirkung des Formaldehyds auf Kreatin und Kreatinin.

(Eingegangen am 21. Juli 1902.)

In einer kleinen Abhandlung, welche in einer medicinischen Zeitschrift¹⁾ veröffentlicht worden ist, habe ich die bisher bekannten Thatsachen bezüglich der Einwirkung des Formaldehyds auf normale und pathologische Harnbestandtheile zusammengestellt und einige neue Erfahrungen mitgeteilt, welche für die Harnanalyse nicht ohne Bedeutung sind. Es hat sich ergeben, dass selbst ein minimaler Formaldehydgehalt des Harns einzelne Bestandtheile desselben, auch wenn sie in sehr vermehrter Menge auftreten, dem Nachweis völlig entzieht. Es gilt dies in besonders hohem Grade von der Indoxylschwefelsäure (Indican), welche offenbar zur Bildung eines gegen die üblichen Indicanreagentien unempfindlichen Condensationsproductes aus intermediär auftretendem Indoxyl²⁾ und Formaldehyd Veranlassung giebt. Dagegen bleibt der Nachweis anderer Harnbestandtheile, z. B. des Urobilins und des Kreatinins, selbst in Gegenwart grösserer Formaldehydmengen (1—2 pCt.) bei Zimmertemperatur ungestört.

Diese Beobachtungen veranlassten mich, das Verhalten der wichtigeren Producte des thierischen Stoffwechsels genauer zu studiren. Die bisher erhaltenen Resultate seien im Folgenden mitgeteilt.

1. Kreatin und Formaldehyd. Bei gewöhnlicher Temperatur erleidet Kreatin, in wässriger Lösung mit ca. 2 pCt. Formaldehyd versetzt, selbst nach tagelangem Stehen keine Veränderung.

Dagegen findet bei erhöhter Temperatur schnelle Einwirkung statt; es entsteht ein Condensationsproduct, welches in folgender Weise gewonnen wird:

1 g reines Kreatin wird in 15—20 ccm Wasser gelöst und nach Hinzufügen der gleichen oder etwas grösseren Gewichtsmenge Formaldehyd (1.5—2 ccm Formalin) 4—5 Stdn. am aufsteigenden Kühler in schwachem Sieden erhalten, nach dem Abkühlen mit 3 Vol. Alkohol und 1 Vol. Aether versetzt. Die Mischung bleibt zunächst klar, scheidet aber allmählich die Hauptmasse des Condensationsproductes

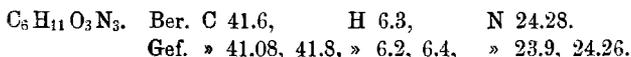
¹⁾ Therapie der Gegenwart 1902.

²⁾ Ein solches Condensationsproduct lässt sich aus reinem [Indoxyl leicht darstellen. Man erhält es auf Zusatz von Formalin zu einer frisch bereiteten Lösung desselben als gelben, zunächst harzigen, alsbald körnig-krySTALLINISCH werdenden Niederschlag. Derselbe scheint viel beständiger zu sein als die leicht zersetzlichen Producte, welche A. Baeyer (diese Berichte 16, 2196 [1883]) bei der Einwirkung anderer Aldehyde, namentlich des Acetaldehyds, auf Indoxyl erhielt.

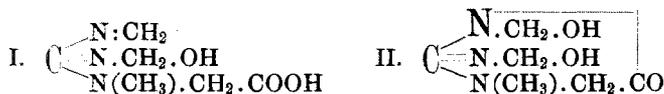
in zolllangen, farblosen, glänzenden Nadeln aus. Nach dem Abfiltriren derselben wird der Rest durch erneuten Aetherzusatz in kleinen, stark lichtbrechenden, der Wand des Glases fest anhaftenden Krystallen gewonnen, welche unter dem Mikroskop die Formen gut ausgebildeter Prismen zeigen. Die Ausbeute betrug bei den einzelnen Darstellungen 80—90 pCt. der Theorie und war in einigen Fällen fast quantitativ.

In geringer Menge entstehen nicht krystallisirende Nebenproducte, welche nicht näher untersucht worden sind. Die Eigenschaften der Verbindung sind folgende: Sie ist in Wasser ziemlich leicht, noch leichter in verdünnten Alkalien löslich, in kaltem Alkohol sehr schwer, in heissem leichter löslich, in Aether unlöslich. Beim Erhitzen über 250° zersetzt sie sich unter Aufblähung, ohne zu schmelzen. Sie enthält Krystallwasser, welches im Exsiccator sehr langsam, aber vollständig, schnell bei 100—105° entweicht.

0.4035 g Sbst. (lufttrocken) verloren bei 105° 0.0705 g H₂O. — 0.2107 g Sbst. (bei 105° getrocknet): 0.3174 g CO₂, 0.1178 g H₂O. — 0.1612 g Sbst.: 0.2475 g CO₂, 0.0929 g H₂O. — 0.1698 g Sbst.: 33.8 ccm N (9°, 758 mm). — 0.1665 g Sbst.: 34.6 ccm N (13°, 751 mm).



Die Zusammensetzung C₆H₁₁N₃O₃ entspricht zwei Structurformeln, nämlich:



Ogleich die Formel I auf den ersten Blick plausibler erscheint, weil sie mehr der Constitution des Kreatins entspricht, glaube ich mich doch für die Formel II (Dioxymethylen-Kreatinin) entscheiden zu müssen, 1. weil das Kreatinin, wie unten gezeigt wird, genau dasselbe Condensationsproduct liefert und 2. weil bei der Benzoylirung zwei Benzoylgruppen in das Molekül eintreten (s. u.). Es findet also bei der Einwirkung des Formaldehyds auf Kreatin gleichzeitig eine Umwandlung desselben in sein Anhydrid, das Kreatinin, statt. Es lag nahe, für diesen Vorgang die geringe, im käuflichen Formalin enthaltene Menge von Ameisensäure verantwortlich zu machen, da ja Kreatin beim Erwärmen mit Säuren bekanntlich sehr leicht in Kreatinin übergeht.

Auch das von mir benutzte Formalinpräparat besass deutlich saure Reaction, auf welche Rücksicht zu nehmen ich keine Veranlassung

hatte, so lange mir die Identität der Kreatin- und Kreatinin-Derivate unbekannt war. Um nun den Einfluss der Säure bei dem Condensationsvorgange kennen zu lernen, habe ich den Versuch mit 0.5 g Kreatin bei sonst gleichen Bedingungen unter Zusatz einer Messerspitze von gepulvertem Baryumcarbonat wiederholt; derselbe geschah in der Absicht, die bereits vorhandene oder während des Erhitzens entstehende Ameisensäure zu neutralisiren.

Das Resultat war folgendes: Auf Zusatz von Alkohol und Aether zu der filtrirten und abgekühlten Reactionsflüssigkeit schieden sich allmählich lange, glashelle Nadeln aus, die durchaus denen des oben beschriebenen Condensationsproductes glichen; ihre Menge aber war sehr spärlich; in grösserer Menge wurden kleine mikroskopische Krystalle, theils in gut ausgebildeten Prismen, theils in zierlichen, lanzettförmigen Blättchen und zuckerhutähnlichen Formen erhalten. Die gesammte Ausscheidung betrug nur 0.2 g. Sie stimmte in ihren Eigenschaften vollkommen mit dem Formaldehyd-Kreatinderivat überein, ergab denselben Krystallwassergehalt (17.5 pCt., ber. 17.2 pCt.) und zeigte namentlich auch das gleiche Verhalten gegen fuchsin-schweflige Säure und — worauf ich grosses Gewicht legen möchte — gegen ammoniakalische Silberlösung (s. u.). Da die Gegenwart des Baryumcarbonats störend auf den Condensationsprocess zu wirken schien, so wurde der Versuch schliesslich in der Weise modificirt, dass die Formalinlösung durch schwaches Erwärmen mit Baryumcarbonat von jeder Spur freier Säure befreit, vor dem Zusatz zur Kreatinlösung aber filtrirt wurde: Aus 0.4 g Kreatin wurde etwa die gleiche Menge einer durchaus homogenen, durchweg in langen Nadeln krystallisirenden Ausscheidung gewonnen, welche sich in nichts von dem Reactionsproduct des säurehaltigen Formalins unterschied.

Es ist hiernach bewiesen, dass die Bildung des Kreatininderivates aus Kreatin und Formaldehyd auch bei völligem Ausschlusse freier Säure geschieht und dass der Einfluss der Letzteren, wenn ein solcher überhaupt besteht, nur in ihrer Bedeutung als Condensationsmittel zu suchen ist.

Um die Constitution der Kreatinin-Formaldehyd-Verbindung sicher zu begründen, versuchte ich zunächst die Darstellung eines Acetyl-derivates; dieselbe war erfolglos, dagegen gelang die Benzoylirung, wenn auch nur schwierig und in sehr unbefriedigender Ausbeute. Nach der Baumann-Schotten'schen Methode erhält man entweder ein krystallinisches, offenbar aus einem Gemenge bestehendes und namentlich stark mit Benzoësäureanhydrid¹⁾ verunreinigtes Product,

¹⁾ Bei der Benzoylirung nach Baumann-Schotten, die ich gelegentlich anderer Untersuchungen ausführte, erhielt ich mitunter sehr beträchtliche Quantitäten Benzoësäureanhydrid. Hierauf gedenke ich bei einer späteren Gelegenheit näher einzugehen.

in anderen Fällen eine harzige, schwer zu reinigende Masse. Ein besseres Resultat ergab sich, wenn ich die Benzoylirung nur mit sehr kleinen Substanzmengen und nach folgendem Verfahren ausführte, welches wenigstens ein einheitliches und reines Product, obgleich immer noch in schlechter Ausbeute, lieferte: Die mit Natronlauge — unter Vermeidung eines grossen Ueberschusses — und Benzoylchlorid versetzte Lösung wird nur so lange geschüttelt, bis die erste krystallinische Ausscheidung bei noch vorhandener, eventuell durch erneuten Zusatz von Natronlauge wieder hergestellter alkalischer Reaction erfolgt. Dies geschieht unter Erwärmung schon nach einigen Secunden. Das Schütteln wird dann nicht bis zum Verschwinden des Geruchs nach Benzoylchlorid fortgesetzt, der Ueberschuss des Letzteren vielmehr dem Gemisch durch Aether entzogen, wodurch gleichzeitig etwa vorhandenes Benzoësäureanhydrid mit entfernt wird. Die alkalisch-wässrige Lösung wird nunmehr filtrirt, der Filtrrückstand mit Wasser gewaschen, getrocknet und aus heissem Alkohol umkrystallisirt. Aus dem wässrigen Filtrat dieser ersten Ausscheidung kann man durch erneute Behandlung mit Natronlauge, Benzoylchlorid und Aether weitere Antheile der Verbindung gewinnen.

Ich glaube, dass diese Modification der Baumann-Schotten'schen Methode auch in anderen Fällen schwieriger Benzoylirung gute Dienste leisten kann.

Die Ausbeute ist, wie gesagt, eine sehr geringe, sie beträgt nicht mehr als 10—15 pCt. der Theorie. Offenbar entstehen Nebenproducte in wechselnder Menge; wiederholt ist mir ein solches begegnet, welches bei 170° schmolz.

Das erhaltene Benzoylirungsproduct krystallisirt aus Alkohol, in welchem es in der Kälte schwer löslich ist, wasserfrei in kleinen, farblosen Nadeln vom Schmp. 265—266°. Es ist in Wasser und Aether nahezu unlöslich.

0.1024 g Sbst. (bei 105° getrocknet): 0.2385 g CO₂, 0.0509 g H₂O.

Diese Zahlen entsprechen der Zusammensetzung eines Dibenzoyl-derivates von der Formel C₆H₉N₃O₃(CO C₆H₅)₂.

C₂₀H₁₉N₃O₅. Ber. C 63.0, H 5.0.
Gef. » 63.5, » 5.5.

Hierdurch ist bewiesen, dass zwei Benzoylgruppen in das Molekül des Kreatinderivates eingetreten sind, und dass dasselbe in der That als Dioxymethylenkreatinin aufzufassen ist.

Das Verhalten des Kreatins gegen Formaldehyd ist ganz analog dem Verhalten der secundären Amine, von welchen Henry¹⁾ zeigte,

¹⁾ Bull. soc. chim. (3) 13, 158.

dass sie sich mit Formaldehyd zu der Verbindung $R_2N \cdot CH_2 \cdot OH$ vereinigen. In gleicher Weise erhielt Franz Sachs¹⁾ aus Phtalimid und Formaldehyd ein Derivat von der Zusammensetzung:



»In allen Fällen«, sagt dieser Autor, »wo eine Imidogruppe in dem Körper, mit dem sich Formaldehyd verbindet, enthalten ist, dürfte eine Condensation zur Gruppe $N \cdot CH_2 \cdot OH$ eintreten«.

Das Dioxymethylen-Kreatinin zeigt ein bemerkenswerthes Verhalten gegen Formaldehydreagentien:

1. Ammoniakalische oder ammoniakalisch-alkalische Silberlösung wird nicht reducirt, ruft vielmehr in der Lösung der Substanz einen farblosen, flockig-gelatinösen Niederschlag hervor, der in einem grossen Ueberschuss von Ammoniak löslich ist und selbst bei stundenlanger Einwirkung des diffusen Tageslichtes sich nicht verfärbt — das gleiche Verhalten zeigt die Substanz, wenn sie vor dem Silberzusatz mit Wasser aufgeköcht und wieder abgekühlt worden war. — Die genauere Untersuchung der Silberverbindung behalte ich mir vor. 2. Fuchsin-schweflige Säure, der Lösung zugesetzt, bleibt in der Kälte farblos oder färbt sich nur sehr langsam schwach röthlich. — Schnelle Rothfärbung tritt bei schwachem Erwärmen mit dem Reagens, in geringerem Grade auch dann ein, wenn die Lösung vor dem Zusatz zum Kochen erhitzt und wieder abgekühlt worden war.

II. Kreatinin und Formaldehyd.

Das zu den Versuchen dienende Kreatinin war aus reinem Kreatin in der bekannten Weise durch Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure und Entfernung der Letzteren mittels Baryumcarbonat dargestellt worden. Sein Verhalten gegen Formaldehyd entspricht vollkommen dem des Kreatins. In der Kälte findet keine Einwirkung statt; wie ich in der eingangs erwähnten Abhandlung mitgetheilt habe, giebt kreatininhaltiger und mit 1—2 Procent Formaldehyd versetzter Harn nach tagelangem Stehen bei Zimmertemperatur alle Reactionen des Kreatinins mit grösster Deutlichkeit. — Erhitzt man Kreatinin in wässriger Lösung mit etwa der gleichen Gewichtsmenge Formaldehyd 4—5 Stdn. am aufsteigenden Kühler bis zu schwachem Sieden, so erhält man ein Condensationsproduct, dessen Isolirung nach dem beim Kreatin beschriebenen Verfahren mit Leichtigkeit gelingt. War die Kreatininlösung eine concentrirte, so scheidet sich die Verbindung schon auf blossen Al-

¹⁾ Diese Berichte 31, 3230 [1898].

koholzusatz in Krystallen aus; anderenfalls erst nach Zusatz von Alkohol und Aether. — Die erhaltenen Krystalle gleichen denen des Kreatinderivats vollkommen; die erste Ausscheidung besteht aus glashellen, spröden Nadeln, welche mitunter die Länge von mehreren Zollen erreichen, die folgenden, durch weiteren Aetherzusatz hervorgerufenen Krystallisationen bestehen aus kleinen, der Glaswand anhaftenden Krystallen von denselben Formen, die oben beschrieben worden sind. Die Löslichkeitsverhältnisse stimmen mit denen des Kreatinderivates überein, desgleichen das Verhalten beim Erhitzen und gegen Formaldehydagentien, vor allem aber die Resultate der Krystallwasserbestimmung, der Elementaranalyse und der Benzoylirung.

Es ist hiernach an der Identität der beiden Producte nicht zu zweifeln.

0.1869 g Sbst. (lufttrocken) verloren bei 105° 0.0324 g H₂O. — 0.401 g Sbst. (lufttrocken) verloren 0.0695 g H₂O. — 0.1545 g Sbst. (bei 105° getrocknet): 0.2400 g CO₂, 0.0925 g H₂O. — 0.1502 g Sbst.: 32.1 ccm N (18°, 756 mm).

C₈H₁₁N₃O₃ + 2H₂O. Ber. C 41.6, H 6.3, N 24.28, H₂O 17.2.

Gef. » 42.36, » 6.64, » 24.55, » 17.3, 17.3.

Die Ausbeute an dem Condensationsproduct bleibt hinter der beim Kreatin erhaltenen zurück und beträgt kaum mehr als 70—80 pCt. der berechneten Menge; es entstehen Nebenproducte offenbar in grösserem Procentsatz.

Die Benzoylirung stiess auf dieselben Schwierigkeiten, welche oben hervorgehoben worden sind, und ergab eine verhältnissmässig sehr geringe Menge eines Products, welches aus heissem Alkohol in mikroskopischen Nadeln und dünnen Prismen krystallisirte und bei 265—267° schmolz.

0.0726 g Sbst.: 7.2 ccm N (19°, 757.5 mm).!

C₂₀H₁₉N₃O₅ = $\frac{1}{2}$ C₈H₉N₃O₃(C₆H₅CO)₂. Ber. N 11.4. Gef. N 11.37.

Königsberg i. P., Universitäts-Laboratorium für med. Chemie.