

410. W. Falta: Ueber die Bildung von Harnstoff bei der Oxydation physiologischer stickstoffhaltiger Substanzen mit Permanganat in saurer Lösung.

[Aus dem medicinisch-chemischen Institut der kais. königl. Deutschen Universität in Prag.]

(Eingegangen am 7. August 1901.)

In einer Reihe von Publicationen hat Ad. Jolles die Angabe gemacht, dass beim Kochen physiologisch wichtiger, stickstoffhaltiger Körper mit Permanganat und verdünnter Schwefelsäure entweder aller Stickstoff quantitativ als Harnstoff erhalten wird, oder nur gewisse, in der Verbindung enthaltene Atome als Harnstoff auftreten, bestimmte andere als Ammoniak oder als Amine. Jolles hält die Lösungen bis 10 Stdn. im Sieden, und behauptet ¹⁾, dass sich der Harnstoff auch dann nicht zersetze, wenn sich in der Flüssigkeit bis 4 pCt. Schwefelsäure befänden. Dabei kocht er ²⁾ die Flüssigkeit auf das halbe Volumen ein, ehe er das verdunstete Wasser ersetzt.

Diese Angaben stehen mit Allem, was man über die Zersetzbarkeit des Harnstoffes weiss, in vollem Widerspruch, und erregen schon darum Befremden. Durch besondere Versuche habe ich mich überzeugt, dass der Harnstoff auch unter den von Jolles angegebenen Bedingungen eine Zersetzung in Kohlensäure und Ammoniak erleidet.

Der Harnstoff wurde in 350 ccm Wasser und 10 ccm concentrirter Schwefelsäure 10 Stdn. im Rückflusskühler gekocht; nach dem Erkalten wurde die Flüssigkeit mit Natronlauge nahezu neutralisirt, auf etwa 100 ccm eingedampft, das gebildete Ammoniak nach Zusatz von überschüssiger Kalkmilch im Vacuum unterhalb einer Temperatur von 50° abdestillirt und in $\frac{1}{4}$ -n.-Schwefelsäure aufgefangen.

Bei dieser Art der Destillation wird nach Söldner ³⁾ der Harnstoff nicht zersetzt, was ich bestätigen kann. Bei der Destillation von 0.2536 g Harnstoff in 100 ccm Wasser mit Kalkmilch sollten für die vorgelegte Schwefelsäure 50.0 ccm $\frac{1}{10}$ -n.-Lauge verbraucht werden; verbraucht wurden 49.9 ccm.

Ein Versuch mit 0.2393 g Harnstoff ergab, dass sich beim 10-stündigen Kochen mit der verdünnten Schwefelsäure 71.8 pCt. desselben zu Ammoniak zersetzt hatten.

In den Versuchen von Jolles wird die Substanz jedoch nicht nur mit Schwefelsäure behandelt, sondern gleichzeitig mit Permanganat. Béchamp ⁴⁾ hat nun die Angabe gemacht, dass unter diesen Umständen ein Theil des Harnstoffes zu Kohlensäure und Stickstoff zersetzt wird. Meine Versuche ergaben dagegen in Uebereinstimmung mit einer Erfahrung von Tiemann und Preusse ⁵⁾, dass unter den

¹⁾ Diese Berichte 33, 1247 [1900]. ²⁾ Diese Berichte 33, 2835 [1900].

³⁾ Söldner, Zeitschr. für Biologie 38, 239 [1899].

⁴⁾ Béchamp, Ann. d. Chem. u. Pharm. 100, 250, [1856].

⁵⁾ Tiemann und Preusse, diese Berichte 12, 1915 [1879].

angeführten Bedingungen eine Oxydation des Harnstoffes nicht stattfindet. Die gegentheilige Angabe von Béchamp würde sich erklären, wenn er mit chloridhaltigen Lösungen gearbeitet hätte.

Ich habe eine Lösung von 0.4882 g Harnstoff in 350 ccm Wasser und 10 ccm concentrirter Schwefelsäure 10 Stdn. lang am Rückflusskühler im Sieden erhalten und allmählich 20 ccm einer 0.8-procentigen Permanganatlösung — wie sie Jolles gebraucht — zufließen lassen. Nach dieser Zeit wurde die farblose Flüssigkeit von dem reichlich abgeschiedenen Braunstein abfiltrirt, dieser mit heissem Wasser säurefrei gewaschen und die gesammte Flüssigkeit halbtirt. Die eine Hälfte wurde auf ein kleines Volumen eingedampft und in ihr der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt, wobei aller Stickstoff des verwendeten Harnstoffes (bis auf 0.06 pCt.) wiedergefunden wurde. Aus der anderen Hälfte wurde in der oben angegebenen Weise das Ammoniak abdestillirt. Die gefundene Menge betrug 66.1 pCt. des Harnstoffes.

Bei einem zweiten solchen Versuch mit 0.2505 g Harnstoff wurde eine 70.0 pCt. des Harnstoffes entsprechende Menge Ammoniak nachgewiesen.

Die Bildung des Braunsteines erklärt sich wohl aus dem Zerfalle der in Freiheit gesetzten Uebermangansäure bei dem stundenlangen Kochen.

Die mitgetheilten Thatsachen sprechen keineswegs zu Gunsten der von Jolles gemachten Angaben; sie sind vielmehr geeignet, ihre Richtigkeit in ernste Zweifel zu ziehen. Um zu erfahren, woraus das von Jolles erhaltene Oxydationsproduct eigentlich besteht, habe ich die Versuche von Jolles mit drei Substanzen wiederholt.

1. Oxydation der Hippursäure.

Wie Jolles¹⁾ berichtet, erfolgt hier die Bildung des Harnstoffes unter Einhaltung des von ihm beschriebenen Verfahrens quantitativ. Für dieses merkwürdige Resultat habe er den Reactionsmechanismus vor der Hand nicht feststellen können. Nach seiner Angabe wurde der Harnstoff als Oxalat gewonnen und als solcher durch eine vollständige Elementäranalyse, sowie durch Bestimmung der Oxalsäure mittels Permanganates nachgewiesen.

Das Verfahren von Jolles besteht darin, dass man Mengen von 0.5 g Hippursäure mit 400 ccm Wasser und 5 ccm, besser 10 ccm, concentrirter Schwefelsäure in einem offenen Becherglase im Kochen erhält und zur Oxydation eine 0.8-procentige Permanganatlösung verwendet. Man setzt nur 0.5 ccm der Lösung auf einmal zu, eine neue Menge erst nach Entfärbung der Flüssigkeit. Die Oxydation ist vollendet, wenn die Flüssigkeit nach dem letzten Zusatze nach halbstündigem Kochen die Farbe nicht mehr verändert, was nach ungefähr 10-stündigem Kochen der Fall ist. Wenn die Flüssigkeit auf die Hälfte eingedampft ist, füllt man mit Wasser auf das ursprüngliche Volumen wieder auf.

Die Mischung wird hierauf in der Kälte mit Natronlauge neutralisirt, auf ein kleines Volumen eingedampft, mit absolutem Alkohol versetzt, von

¹⁾ Diese Berichte 33, 2834 [1900].

den ausgeschiedenen Salzen befreit, wieder verdampft und das Fälln mit Alkohol und Verdunsten so oft (8—10-mal) wiederholt, bis das auf 20—30 ccm eingedampfte Filtrat beim Erkalten kein Salz mehr abscheidet. Die Flüssigkeit wird dann mit ätherischer Oxalsäurelösung im Ueberschuss versetzt und der entstandene Niederschlag nach 24 Stdn. mit Aether oxalsäurefrei gewaschen. Das Trocknen nahm Jolles im Vacuum vor.

Von dieser Vorschrift war ich genöthigt, in einem Punkte abzuweichen. Der von Jolles angegebene Endpunkt der Reactionen, das Bestehen der Rothfärbung durch längere Zeit, war in keinem Falle zu erreichen. Für die hypothetische Oxydation des Glykocolls von 0.5 g Hippursäure zu Harnstoff sind 66 ccm 0.8-procentige Permanganatlösung erforderlich. Anfangs verschwand das Permanganat schnell, später immer langsamer und nach Verbrauch von 40—47 ccm des Permanganats ging der gebildete Braunstein nicht mehr in Lösung, obwohl, wie sich an der Oberfläche der Flüssigkeit erkennen liess, Entfärbung noch stattfand. Um den Verlust an Oxydationsmittel zu decken, der durch den ausgefallenen Braunstein verursacht wurde, habe ich in den einzelnen Versuchen die berechnete Menge von Permanganatlösung um 10—30 ccm überschritten. Wäre dabei auch mehr als die zur Oxydation erforderliche Menge Permanganats verbraucht worden, was jedoch nicht wahrscheinlich ist, so hätte dadurch doch die Bildung von Harnstoff nicht geschädigt sein können; denn wie oben gezeigt, wird der Harnstoff durch Permanganat nicht oxydirt.

Damit das Flüssigkeitsvolumen leichter constant erhalten werden kann, wurden die Reactionen in Kochflaschen vorgenommen. Concentriren der Säure auf das Doppelte durch Eindampfen, wie Jolles gethan hat, ist sicher der Erhaltung des Harnstoffes nachtheilig. Die Kochdauer betrug in jedem Falle 10 Stdn.

In zwei Versuchen wurde die Flüssigkeit nach der Oxydation direct zu Ammoniakbestimmungen verwendet. Sie wurde vom Braunstein abfiltrirt, mit Natronlauge nahezu neutralisirt und auf ein kleines Volumen eingedampft. Dabei sich ausscheidendes Manganoxyd wurde durch Filtration entfernt. Nach jeder Filtration wurde das Filtersäurefrei gewaschen. In der concentrirten Flüssigkeit wurden 91.2 und 88.5 pCt. des Stickstoffs der verwendeten Hippursäure als Ammoniak wieder gefunden.

Es wurden ferner einige Male mehrere Portionen Hippursäure zu 0.5 g nach der von Jolles vorgeschriebenen Weise verarbeitet und der zuletzt mit ätherischer Oxalsäurelösung erhaltene Niederschlag im Vacuum bis zur Gewichtsconstanz getrocknet. Er stellte ein feines, weisses, leichtes Pulver dar. Nach Jolles besteht dieses Product aus analysenreinem, oxalsaurem Harnstoff.

Von dem Pulver wurden 0.35 g auf Harnstoff untersucht. Die Substanz wurde mit Baryumcarbonat versetzt, mit Wasser aufgeköcht,

im Wasserbade zur Trockne verdunstet und der Rückstand in der Kälte mit Aether-Alkohol ausgezogen. Auf diese Weise kann man, wie ich mich überzeugt habe, aus sehr geringen Mengen oxalsauren Harnstoffs den Harnstoff wiedergewinnen. Die ätherisch-alkoholische Lösung aus dem Oxydationsproduct hinterliess aber beim Verdunsten keine Nadeln, sondern mikroskopisch kleine, unregelmässig begrenzte Plättchen in amorpher Substanz. Concentrirte Salpetersäure löste die Plättchen grösstentheils, ohne dass sich darauf salpetersaurer Harnstoff ausschied.

Von zwei Producten verschiedener Darstellung wurde der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt und in dem einen 0.34, in dem anderen 0.63 pCt. Stickstoff gefunden.

Das Product enthielt Manganoxydul; in dem einen Präparate, welches 0.63 pCt. Stickstoff ergab, wurden 6.91 pCt. Manganoxydul gefunden.

Zur Bestimmung des Mangans wurde die Substanz mit Salpetersäure und Kaliumchlorat oxydirt, der gebildete Braunstein säurefrei gewaschen und in einer Kohlensäureatmosphäre mit Ferroammoniumsulfat reducirt. Das überflüssige Ferrosalz wurde mit $\frac{1}{10}$ -n.-Permanganat zurücktitrirt.

Endlich hinterliessen 0.1655 g Substanz beim Glühen 0.0902 g braunen Rückstand. Sieht man ab von der Gewichtszunahme, welche das Manganoxydul bei der Verwandlung in Manganoxydroxydul beim Glühen erfahren hat, so beträgt der Gehalt des untersuchten Productes an nicht flüchtiger Substanz 54.5 pCt.

Das Glykocoll selbst verhält sich im Wesentlichen so, wie das in der Hippursäure enthaltene, nur wird es viel langsamer oxydirt. Bei vier Versuchen wurden bei 10—29-stündiger Dauer der Oxydation 32.6—63.2 pCt. seines Stickstoffes als Ammoniak bestimmt. Die Oxydationsflüssigkeit enthielt den ganzen Stickstoff des angewandten Glykocolls.

Was Jolles für reinen oxalsauren Harnstoff ausgegeben hat, ist also keinesfalls solcher.

2. Oxydation des Asparagins.

Jolles¹⁾ hat die Angabe gemacht, dass durch das geschilderte Verfahren wohl das Asparagin, aber nicht die Asparaginsäure zu Harnstoff oxydirt werde. Belegt ist diese Angabe gleichfalls durch die Elementaranalyse des oxalsauren Harnstoffs.

In meinen Versuchen verlief die Oxydation des Asparagins wie die der Hippursäure. Die Flüssigkeit schied zuletzt Braunstein ab und blieb nach Zusatz von Permanganat niemals längere Zeit roth. Die Oxydation wurde daher wie die der Hippursäure vorgenommen

¹⁾ Diese Berichte 34, 386 [1901].

durch Zusatz der berechneten Menge Permanganat. Um 0.5 g Asparagin zu Harnstoff zu oxydiren, sind 183 ccm einer 0.8-procentigen Permanganatlösung erforderlich. Es ist dabei angenommen, dass die Hälfte des Stickstoffs als Ammoniak auftritt.

In zwei, mit verschiedenen Mengen Asparagins angestellten Versuchen wurde nur die Flüssigkeit analysirt, und zwar in der einen Hälfte der Gesamtstickstoff, in der anderen das Ammoniak bestimmt. An Stickstoff wurden gefunden 20.98 und 21.21 pCt. des verwendeten Asparagins (ber. 21.21 pCt.) und an Ammoniak 95.64 und 96.07 pCt. des Gesamtstickstoffs. Es war also nahezu aller Stickstoff des Asparagins in Ammoniak übergeführt worden.

Die von Jolles als oxalsaurer Harnstoff erklärte Substanz hinterliess beim Glühen 35.72 pCt., wovon nach einer Bestimmung des Mangans im Glührückstande 18.46 pCt. auf Manganoxoxydoxidul kamen.

In der Substanz selbst waren 11.08 pCt. Stickstoff enthalten. Bei einem zweiten Versuche wurden in dem vermeintlichen Harnstoffoxalate 16.15 pCt. Stickstoff direct bestimmt und 16.11 pCt. als Ammoniak nachgewiesen. Der Stickstoffgehalt der Substanz rührt also ganz vom Ammoniak her.

Aus der Analyse der aus der Hippursäure und dem Asparagin erhaltenen Oxydationsproducte geht also hervor, dass die von Jolles als oxalsaurer Harnstoff bezeichneten Substanzen überhaupt keinen Harnstoff enthalten. Zu Harnstoff können Glykokoll und Asparagin allerdings durch Permanganat oxydirt werden, aber, wie Hofmeister¹⁾ dargethan hat, in Gegenwart von freiem Ammoniak. In saurer Lösung vollzieht sich diese oxydative Synthese dagegen nicht. Die Oxydation hat in diesem Fall nur die Bildung von Ammoniak zur Folge.

3. Oxydation der Harnsäure.

Bei der Oxydation der Harnsäure nach Jolles²⁾ liegen die Verhältnisse insofern wesentlich anders, als der Harnstoff in der Harnsäure präformirt enthalten ist, und nicht erst durch die Oxydation zu entstehen braucht. In der That lässt sich Harnstoff in den Zersetzungsproducten leicht nachweisen. Die Oxydation wurde in der von Jolles³⁾ angegebenen Weise vorgenommen, indem so lange 0.8-procentige Permanganatlösung (immer 5 ccm auf einmal) zufließen gelassen wurde, bis nach 10—15 Minuten keine Entfärbung mehr erfolgte. Die dann zugesetzte Menge Permanganat stimmte in der That mit der für die Oxydation berechneten — 1 g Harnsäure braucht 141 ccm der verwendeten Permanganatlösung — überein; aber unter quantitativer

¹⁾ Hofmeister, Archiv f. exper. Pathologie 37, 435 [1897].

²⁾ Diese Berichte 33, 1246 [1900].

³⁾ Zeitschr. für physiol. Chem. 29, 222 [1900].

Ueberführung des Stickstoffs in Harnstoff, wie Jolles¹⁾ es angiebt, verläuft die Reaction keineswegs. In zwei Versuchen konnte ich in der Oxydationsflüssigkeit 14.9 und 17.7 pCt. vom Stickstoff der verwendeten Harnsäure als Ammoniak nachweisen.

Der Oxalsäureniederschlag, welcher nach Jolles den gesamten Stickstoff der angewandten Harnsäure als oxalsauren Harnstoff enthält, hat im Ganzen die Beschaffenheit wie in den bereits beschriebenen Fällen. Einmal wurden von mir in demselben 8.67 pCt. Gesamtstickstoff und 1.47 pCt. Stickstoff als Ammoniak gefunden, bei einem zweiten Versuche betrugen die entsprechenden Zahlen 16.27 und 1.55 pCt. Einer dieser Niederschläge hinterliess beim Glühen 31.64 pCt. Rückstand mit 1.78 pCt. Manganoxydul, in einem zweiten solchen Niederschlag wurden 1.04 pCt. Manganoxydul gefunden.

411. Adolf Baeyer und Victor Villiger: Ueber die basischen Eigenschaften des Sauerstoffs.

[Mittheilung aus dem chem. Laboratorium der Akademie der Wissenschaften zu München.]

(Eingegangen am 1. August 1901.)

Salzartige Verbindungen von stickstofffreien sauerstoffhaltigen Substanzen sind schon seit längerer Zeit bekannt. So haben Baeyer und Emil Fischer²⁾ eine Verbindung von Fluorescein mit Schwefelsäure und von Orcinphtalein mit Salzsäure dargestellt und analysirt. Kurze Zeit darauf haben Dale und Schorlemmer³⁾ Verbindungen des Aurins mit Säuren beschrieben. Sie sagen: »Aurin hat nur schwach saure Eigenschaften und bildet mit Basen unbeständige Verbindungen. Dagegen ist es scharf ausgesprochene Base und verbindet sich mit Säuren zu Salzen, welche sehr beständig sind und ausgezeichnet krystallisiren.« Untersucht wurde namentlich ein salzsaures und ein schwefelsaures Salz. Claisen und Ponder⁴⁾ beobachteten ein rothes unbeständiges Additionsproduct von Salzsäure und Dibenzalaceton, Wallach⁵⁾ untersuchte genauer schon früher beobachtete Additionsproducte von Halogenwasserstoffsäuren und Cineol. A. G. Perkin⁶⁾ hat endlich eine ganze Reihe von salzartigen Verbindungen gelber Farbstoffe beschrieben und gezeigt, dass die Quercetingruppe, welche

¹⁾ Zeitschr. f. physiolog. Chem. 29, 238.

²⁾ Ann. d. Chem. 183, 27, 68 [1876]. ³⁾ Ann. d. Chem. 196, 84 [1879].

⁴⁾ Ann. d. Chem. 223, 142 [1884]. ⁵⁾ Ann. d. Chem. 216, 281 [1888].

⁶⁾ Chem. Soc. Tr. 69, 1439 [1896].