Einzelne dieser Verbindungen habe ich bereits in den Berichten der deutschen chemischen Gesellschaft **12**, 2032 kurz skizzirt und ich werde später ausführlicher auf diese und andere analoge Verbindungen zurückkommen.

Florenz, Istituto superiore.

Mittheilung aus dem Universitätslaboratorium zu Halle a. S.

**107) Guanidin, ein Oxydationsproduct des Eiweißes;
Beitrag zur Frage der Harnstoffbildung;**

von *F. Lossen*.

(Eingelaufen den 23. Januar 1880.)

Nachdem Béchamp*) Mitte der fünfziger Jahre unter den Producten der Einwirkung einer Lösung von übermangansaurem Kali auf Eiweiß und andere Proteinsubstanzen Harnstoff nachgewiesen haben wollte und Städeler**) auf Grund einer Prüfung der Béchamp'schen Arbeit dessen Beobachtung als Täuschung darzustellen suchte, ist diese Frage eine offene geblieben.

Es haben später Andere diese Versuche ebenfalls wiederholt, so Sobbotin***) und O. Loew†), doch mit gleich negativem Erfolge. Aber auch diesen Arbeiten gegenüber hielt Béchamp††) seine Beobachtung aufrecht. Nach Städeler soll derselbe Benzoësäure, nach O. Loew salpetersauren Baryt für salpetersauren Harnstoff angesehen haben.

*) Journ. de pharm. [3] **31**, 32.

) Journal für praktische Chemie **72, 251.

***) Chem. Centralbl. 1865, S. 593.

†) Journal für praktische Chemie [2] **2**, 289.

††) Compt. rend. **70**, 866.

Béchamp beschreibt seinen Versuch eingehend und giebt schliesslich an, dass die krystallinischen Blättchen, welche er für salpetersauren Harnstoff hält, mit Millon'scher Flüssigkeit schon in der Kälte Kohlensäure und Stickstoff entwickeln; dass jedoch die dabei erhaltene Menge Stickstoff, relativ zur Kohlensäure, zu hoch gefunden sei, und schreibt dieses der Gegenwart eines anderen Amids zu; es verhalte sich ja der Harnstoff, aus Harn dargestellt, ebenso.

E. Ritter*) (wohl ein Schüler Béchamp's) giebt ferner an, nach dem Béchamp'schen Verfahren aus Eiweiss, Fibrin und Gluten Harnstoff erhalten zu haben. Derselbe will oxalsauren und salpetersauren Harnstoff daraus dargestellt, aber daneben auch noch andere krystallinische Körper beobachtet haben.

Die zur Untersuchung zur Verfügung stehenden Mengen waren jedoch so gering, dass analytische Belege ganz fehlen.

Ich habe den Béchamp'schen Versuch nun in etwas veränderter Form nachgeahmt und zwar, indem ich nicht blofs übermangansaures Kali, sondern die Lösung eines Gemisches äquivalenter Mengen dieser Verbindung und Bittersalz bei gewöhnlicher Temperatur auf gereinigtes Hühnereiweiss einwirken liess. Die Oxydationsmischung behält so immer die schwach alkalische Reaction einer Magnesialösung. Ausserdem stellte ich den Versuch in grösserem Mafsstabe an, als dies bisher geschah.

Nachfolgend die Verhältnisse und die Versuchsmethode.

500 g trockenen Hühnereiweisses des Handels, von H. Trommsdorf in Erfurt bezogen, wurden, einem Einwande, das Eiweiss könnte Harnstoff enthalten haben, zu begegnen, gereinigt, und zwar indem dasselbe in der 50fachen Menge destillirten Wassers gelöst, die Lösung filtrirt, mit ganz wenig

*) Bull. soc. chim. [2] **16**, 32; im Auszug Compt. rend. **78**, 1219.

Essigsäure angesäuert und durch Einleiten von Wasserdampf coagulirt wurde. Das Coagulum habe ich im Spitzbeutel mit destillirtem Wasser ausgewaschen.

Das so gereinigte Eiweiß wurde in circa 40 l destillirten Wassers, dem 30 g Kalihydrat zugefügt waren, zertheilt und die kleisterartig aufgequollene Masse von Kaliumalbuminat zur Erzielung größerer Gleichmäßigkeit der Mischung durch ein Sieb gegossen, resp. gerieben.

Zusatz der dem Kali entsprechenden Menge Bittersalz machte sodann die Masse wieder dünnflüssig, unter Ausscheidung flockigen Magnesiumalbuminats.

Es folgte nun Zusatz des Gemisches von übermangansaurem Kali und Bittersalz. Bei diesem ersten Versuche geschah derselbe in größeren Parthieen in wässriger Lösung, so lange die Mischung noch schnell entfärbt wurde; sodann in kleineren Mengen, bis die Rothfärbung selbst nach 12 Stunden nicht mehr verschwand. Zusatz einer kleinen Menge Alkohol vollendete dann die Reduction.

Im ganzen betrug die Menge des übermangansauren Kali's 375 g, der Zusatz von Bittersalz 294 g.

Die vom Niederschlage abgegossene, abfiltrirte, schwach alkalische, kaum gelblich gefärbte Lösung giebt mit Säuren angesäuert eine voluminöse Fällung weißer amorpher Flocken, deren Eigenschaften mit denen des Schützenberger'schen Hemiproteins übereinzustimmen scheinen und deren weitere Untersuchung, sowie die anderer, nach dieser Methode erhaltener Producte, ich mir einstweilen gewahrt wissen möchte.

Zur Abscheidung dieses Körpers wurde die Lösung mit Schwefelsäure so lange versetzt, als diese noch eine Fällung bewirkte, das Filtrat davon mit Kali neutralisirt und nachdem der größte Theil des schwefelsauren Kali's und der schwefelsauren Magnesia durch Eindampfen und Krystallisation entfernt war, die syrupdicke Mutterlauge mit absolutem Alkohol

gefällt. Nachdem in derselben Weise die Fällung der von Alkohol befreiten, noch mehr concentrirten Lösung mit 100-procentigem Alkohol wiederholt war, wurde die alkoholische Lösung ganz zur Trockne gebracht, der Abdampfrückstand gepulvert und mit 100procentigem Alkohol ausgezogen.

Der Verdunstungsrückstand dieser alkoholischen Lösung, der übrigens nicht krystallinisch erschien, hätte etwa gebildeten Harnstoff enthalten müssen.

Mit wenig Wasser aufgenommen und mit Salpetersäure von 1,2 spec. Gewicht versetzt schied die Lösung desselben zunächst etwas Benzoësäure, das Filtrat von dieser im Vacuum über Schwefelsäure der Verdunstung überlassen sodann eine kleine Menge moosförmiger weißer Krystalle, endlich aber Blättchen aus, welche dem salpetersauren Harnstoff zum Verwechseln ähnlich erschienen.

Da bei weiterer Concentration Verminderung dieser Blättchen unter gleichzeitiger Entwicklung farblosen Gases an denselben beobachtet wurde, so erschien dies als eine Bestätigung der Identität derselben mit salpetersaurem Harnstoff. Denn war dieser vorhanden, so mußte sich, wenn durch Einwirkung der concentrirter werdenden Salpetersäure auf vorhandene andere Körper salpetrige Säure gebildet wurde, der Harnstoff unter Kohlensäure- und Stickstoffentwicklung zersetzen.

Die saure Mutterlauge wurde daher sofort von den Krystallen getrennt, letztere abgepresst, die wässrige Lösung derselben mit kohlensaurem Baryt im Ueberschusse versetzt, das Filtrat davon im Wasserbade zur Trockne gebracht und der Rückstand mit Aetheralkohol ausgezogen.

Der Verdunstungsrückstand dieses Auszugs erschien deutlich krystallinisch, war leicht löslich in Wasser und ging mit Salpetersäure von 1,2 spec. Gewicht scheinbar vollständig in

salpetersauren Harnstoff über. Genauere Prüfung ergab jedoch noch immer Beimengung der erwähnten moosartigen Krystalle.

Die Lösung der so wieder erhaltenen abgepressten salpetersauren Verbindung in möglichst wenig kaltem Wasser gab mit einer Lösung von Oxalsäure versetzt eine Ausscheidung von Krystallen, welche nach Form und Entstehung für oxalsauren Harnstoff gehalten wurden. Dieselben wurden nun sammt Lösung zur Trockne gebracht und fein zerrieben mit Aetheralkohol zur Beseitigung der Salpetersäure ausgezogen und nun die Oxalsäure durch Kalkhydrat u. s. w. wie üblich entfernt. Die so erhaltene sehr kleine Menge vermeintlichen Harnstoffs war nur zur Ausführung einzelner Reactionen ausreichend, welche die Vorstellung, daß der Körper wirklich Harnstoff sei, nur befestigten. Das Verhalten gegen Salpetersäure, gegen salpetersaures Quecksilberoxyd war ganz das des Harnstoffs, nur suchte ich vergebens an der salpetersauren Verbindung die für salpetersauren Harnstoff charakteristischen Winkel von 82° aufzufinden.

Der Versuch mußte daher wiederholt werden, und jetzt wurde die ursprüngliche Lösung nach Abscheidung der flockigen Fällung statt durch Eindampfen durch Ausfrieren concentrirt, in der Hoffnung, der Zersetzung des Harnstoffs beim Abdampfen so großer Flüssigkeitsmengen vorzubeugen, und es stammt aus diesem Versuche in der That eine etwas größere Menge salpetersaurer und oxalsaurer Verbindung, eben ausreichend zu einer Analyse.

Die Bestimmung des Kohlenstoffs und Wasserstoffs aus der salpetersauren Verbindung ergab aus 0,171 g Substanz 0,0783 H_2O = 0,0087 H, und 0,0712 H_2O = 0,0194 C.

	Berechnet für CON_2H_4, HNO_3	Gefunden
C	9,75	11,857
H	4,06	5,09.

Es schien demnach, als sei dieselbe noch mit einer geringen Menge einer kohlenstoffreicheren Verbindung verunreinigt.

Die oxalsäure Verbindung verlor beim Trocknen bei 105° C. aus 0,1283 g Substanz 0,0147 Wasser oder 11,46 pC.

0,1186 g der bei 105° C. getrockneten Verbindung gab bei der Oxalsäurebestimmung 0,0424 Calciumoxyd oder 37,324 pC.

Der Wasserverlust entspricht jedoch nicht dem des oxalsauren Harnstoffs, welcher kein Wasser verliert, entgegen der Angabe von Marchand *), welcher angiebt, daß derselbe bei 120° C. getrocknet 14,3 pC. Wasser abgebe.

Diese Angabe führte zu einer Prüfung des Verhaltens reinen oxalsauren Harnstoffs und es stellte sich heraus, daß sich die wässerige Lösung desselben schon bei bloßem Abdampfen im Wasserbade schnell verändert, daß dann mit Platinchlorid Ammoniak nachgewiesen werden kann und daß schließlich die Verbindung unter Ammoniakverlust in saures oxalsaures Ammoniak übergeht, welches das von Marchand angegebene Verhalten zeigt, d. i. 14,4 pC. Wasser verliert. Derselbe wird also letztere Verbindung auf ihren Wasserverlust beim Trocknen bei 120° C. untersucht haben.

Ein dritter Versuch endlich, zu welchem 1000 g trockenen Eiweißes verwendet wurden, lieferte nach einem abermals etwas geänderten Verfahren circa 1,2 g reiner salpetersaurer Verbindung.

Der alkoholische Auszug, welcher den Harnstoff enthalten sollte, wurde dießmal nach Verdunsten des Alkohols und Lösen des Rückstands in Wasser nach Art einer Harnstofflösung mit salpetersaurem Quecksilberoxyd ausgefällt, die Quecksilberverbindung ausgewaschen, durch Schwefelwasserstoff zerlegt und die Lösung im Vacuum über Schwefelsäure verdunstet.

*) Gmelin, Handbuch 4, 869.

Dieselbe schied hierbei die salpetersaure Verbindung in ziemlich reinem Zustande aus. Die Krystalle wurden durch Abpressen der Mutterlauge, Lösen in kaltem Wasser und Verdunsten dieser Lösung über Schwefelsäure rein erhalten.

Die Mutterlauge aber, welche Ammoniumverbindungen enthielt, wurde mit gepulvertem Barythydrat über Schwefelsäure stehen gelassen, bis kein Ammoniak mehr zu erkennen war, Kohlensäure eingeleitet, der kohlensaure Baryt durch Filtration getrennt, das Filtrat im Vacuum eingetrocknet, gepulvert, mit 100 procentigem Alkohol erschöpft und der Rückstand dieser alkoholischen Lösung mit Salpetersäure versetzt. Es gelang so noch eine kleine Menge der salpetersauren Verbindung zu erhalten.

Die reine salpetersaure Verbindung reagirt vollständig neutral, während die entsprechende Harnstoffverbindung bekanntlich stark saure Reaction zeigt. Mit Platinchlorid giebt sie eine wohl krystallisirte Verbindung, schwerer löslich als die entsprechende Harnstoffverbindung, welche W. Heintz *) neuerdings dargestellt und beschrieben hat. Die kalt gesättigte wässrige Lösung mit concentrirter Lösung von Goldchlorid versetzt, gesteht fast zu einem Brei einer nadelig krystallinischen Goldverbindung, welche durch Abpressen und Umkrystallisiren aus heisser wässriger Lösung in langen prachtvoll tiefgelben Nadeln rein erhalten wurde.

Eine zum Vergleiche aus reinem salpetersauren Guanidin in gleicher Weise dargestellte Goldverbindung zeigte ein ganz analoges Verhalten.

Die Analyse endlich dieser Goldverbindung, sowie die früher bei Untersuchung der oxalsauren Verbindung erhaltenen Zahlen zeigen, dafs der Körper in der That Guanidin und nicht Harnstoff ist.

*) Diese Annalen 198, 91.

376 *Lossen, Guanidin, ein Oxydationspr. d. Eiweißes.*

Die Bestimmung des Kohlenstoffs und Wasserstoffs aus der Goldverbindung ergab : 0,310 g Substanz gaben 0,0362 CO₂ und 0,0455 H₂O, endlich aus der im Schiffchen verbliebenen Goldmenge (es hatte sich ein kleiner Goldspiegel in der Verbrennungsröhre gebildet) 0,1515 Gold. Eine im Porcellantiegel ausgeführte weitere Goldbestimmung ergab aus 0,208 g Substanz 0,1027 Gold.

	Berechnet für CH ₅ N ₃ .HCl.AuCl ₂	Gefunden
C	3,012	3,184
H	1,506	1,790
Au	49,851	49,375.

Die früher untersuchte, bei 105° C. getrocknete oxalsaure Verbindung ergab bei der Oxalsäurebestimmung 37,324 pC. Kalk, das getrocknete oxalsaure Guanidin CH₅N₃, C₂H₂O₄ verlangt 37,581 pC. CaO, und die ungetrocknete Verbindung CH₅N₃, C₂H₂O₄ + H₂O verlangt 10,778 pC. Wasserverlust. Gefunden war zwar 11,61 pC., doch mochte die Probe, weil erst unmittelbar vor der Wägung zerrieben, nicht ganz lufttrocken gewesen sein.

Die Eigenschaften der Verbindungen des Harnstoffs, welche von Béchamp und Ritter zur Erkennung desselben dargestellt wurden, sind denen der entsprechenden Guanidinverbindungen so ähnlich, daß eine Verwechselung beider, wenn nur geringe Mengen davon vorliegen, leicht möglich ist, wie ich ja auch selbst anfänglich in denselben Irrthum verfallen bin.

Es ist daher gar kein Grund mehr für die Annahme vorhanden, daß die früheren Beobachter Harnstoff unter Händen gehabt haben.

Halle, Universitätslaboratorium, Januar 1880.