

Zur Kenntnis der durch Phenylhydrazin fällbaren Harnbestandteile.

Von
Hugo Milrath.

(Aus dem chemischen Laboratorium der k. k. deutschen Universität in Prag.)
(Der Redaktion zugegangen am 29. April 1908.)

Infolge der häufigen Behandlung des Harns mit Phenylhydrazin zum Nachweise des Zuckers sah sich M. Jaffé¹⁾ veranlaßt, die durch Phenylhydrazin fällbaren Harnbestandteile festzustellen und die bei diesen Versuchen erhaltenen Niederschläge näher zu untersuchen. Es gelang ihm auch, aus dem Harn von Hunden, welche nur Fleischnahrung erhalten hatten, und aus wässerigen Harnstofflösungen, durch Erwärmen mit Phenylhydrazin und Essigsäure, einen Körper zu isolieren, den er als Phenylsemicarbazid $C_6H_5 \cdot NH \cdot NHCONH_2$ identifizieren konnte. Die Bildung dieses Körpers im Harn und in wässerigen Harnstofflösungen ist offenbar darauf zurückzuführen, daß sich der Harnstoff in wässriger Lösung schon bei gewöhnlicher Temperatur in Ammoniumcyanat umsetzt. Wie Walker und Hambly²⁾ zeigten, stellt sich ein Gleichgewicht zwischen Harnstoff und Ammoniumcyanat ein, und dieser Zustand ändert sich mit der Temperatur scheinbar nur in geringem Maße. Nach den Untersuchungen von Ch. Ed. Fawcitt³⁾ aber verschiebt sich bei steigender Temperatur das Gleichgewicht zugunsten des Ammoniumcyanates; es wird also beim Übergang von Harnstoff in Ammoniumcyanat Wärme absorbiert. Gewisse Körper wie Alkohol, Aceton, Glykol, Glycerin

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXII (1896), S. 532.

²⁾ J. of Chem. Society, Bd. LXVII (1895), S. 746.

³⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem., Bd. XLI (1902), S. 601.

und Rohrzucker verzögern, wie Walker und Kay¹⁾ festgestellt haben, die Bildung von Ammoniumcyanat aus Harnstoff. Diese Umsetzung, welche auch wahrscheinlich die Genauigkeit der Chloridbestimmung im Harn mittels Silbernitrat (Bildung von Silbercyanat) beeinflussen dürfte, wurde außer von den oben genannten Forschern noch von Fenton²⁾ näher studiert.

Es deckt sich somit die von Jaffé zur Darstellung des Phenylsemicarbazids angegebene Methode im Prinzip mit der von Emil Fischer und noch weitergehender mit jener von O. Widman. Nach E. Fischer³⁾ erhält man das Phenylsemicarbazid, wenn man Kaliumcyanat mit Phenylhydrazinsalzen in wässriger Lösung gelinde erwärmt; nach Widman⁴⁾ resultiert diese Verbindung aus Phenylhydrazin, Kaliumcyanat und verdünnter Essigsäure.

Versuche mit Hunde- und Katzenharn.

Bei der Wiederholung von Jaffés Versuchen, die mit dem Harn von mit Fleisch gefütterten Hunden ausgeführt worden waren, hielt ich mich zunächst strenge an die Vorschrift (je 200 ccm Hundeharn mit 10 ccm Phenylhydrazin und 50%iger Essigsäure bis zu stark saurer Reaktion ca. 2 Stunden auf dem Wasserbade erwärmt), soweit diese in bezug auf die angewendete Essigsäuremenge nicht einen gewissen Spielraum läßt. Ich erhielt aber durchwegs negative Resultate. Um den Grund aufzufinden, warum wohl die Reaktion nicht wie nach der festgestellten Umlagerung von Harnstoff in Ammoniumcyanat und nach den Beobachtungen Jaffés zu erwarten gewesen wäre, unter Bildung von Phenylsemicarbazid verlief, änderte ich die Versuchsbedingungen zuerst bezüglich der Essigsäuremenge und dann auch bezüglich des verwendeten Phenylhydrazins ab. Aber auch bei diesen Versuchen resultierte kein Phenylsemicarbazid. Erst als die Erwärmungsdauer des Reaktionsgemisches von 200 ccm Hundeharn, 10 ccm Phenyl-

¹⁾ J. of Chem. Society, Bd. LXXI (1897), S. 489.

²⁾ Chem. News, Bd. LXXII (1895), S. 46.

³⁾ Ann., Bd. CXC (1878), S. 113.

⁴⁾ Ber., Bd. XXVI (1893), S. 2613.

hydrazin und 12 g 50^o/oiger Essigsäure auf 5 Stunden ausgedehnt worden war, hatte sich Semicarbazid gebildet. Dieses schied sich nach dem Erkalten der Reaktionsflüssigkeit in Form von kugelrunden, hellgelb gefärbten Warzen an den Gefäßwänden ab. Der Schmelzpunkt lag bei 169—170^o; die Ausbeute betrug 3,6 g (bei 100^o getrocknet). Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus heißem Alkohol und heißem Wasser erhielt ich ein farbloses Präparat, das bei 172^o scharf schmolz; unter dem Mikroskope zeigte es langgestreckte, von Rechtecken begrenzte Prismen. Es war mit dem zu Vergleichszwecken nach E. Fischer¹⁾ dargestellten Phenylsemicarbazid identisch. Um also aus dem Hundeharn durch Erwärmen mit Phenylhydrazin und Essigsäure sicher Phenylsemicarbazid zu erhalten, ist eine 4—5stündige Erwärmungsdauer notwendig.

Ich führte auch eine Versuchsreihe mit Katzenharn aus. Bei einem einzigen dieser Versuche (je 200 ccm Katzenharn, 10 ccm Phenylhydrazin und 20 g 50^o/oige Essigsäure) erhielt ich bereits nach zweistündigem Erwärmen auf dem Wasserbade und nachherigem Stehenlassen in der Kälte eine krystallinische Abscheidung von Phenylsemicarbazid. In allen anderen Fällen hatte aber diese Erwärmungsdauer nicht ausgereicht. Erst nach vierstündigem Erwärmen resultierte dann auch beim Katzenharn immer sicher Phenylsemicarbazid.

Versuche mit Menschenharn.

Jaffé war es nicht gelungen, aus dem Menschenharn durch Erwärmen mit Phenylhydrazin und Essigsäure Phenylsemicarbazid zu erhalten. Meine ersten diesbezüglichen Versuche (200 ccm Harn, 10 ccm Phenylhydrazin und 12 g 50^o/oige Essigsäure zwei Stunden auf dem Wasserbade erwärmt) verliefen ebenfalls ergebnislos. Dieses Resultat war ja schließlich zu erwarten, da sogar beim harnstoffreichen Hundeharn erst nach vierstündigem Erwärmen Bildung von Phenylsemicarbazid stattgefunden hatte. Um sicher zu sein, daß das aus dem Harnstoff entstandene Ammoniumcyanat mit dem gebildeten essigsäuren Phenylhydrazin in Reaktion trete, erwärmte ich den

¹⁾ Ann., Bd. CXC (1878), S. 113.

Harn ungefähr 9 Stunden mit 10 ccm Phenylhydrazin und der dem Phenylhydrazin äquivalenten Menge (12 g 50%iger) Essigsäure auf dem Wasserbade. Die Flüssigkeit stand hierauf längere Zeit in der Kälte; es hatten sich nun gelbe Krystallwarzen von Phenylsemicarbazid (Schmelzpunkt des Rohproduktes 169/170°) abgesetzt. Die Ausbeute der bei 100° getrockneten Substanz betrug 4,1 g. Das nach dem Abfiltrieren des Semicarbazids erhaltene Filtrat wurde noch weitere drei Stunden auf dem Wasserbade erwärmt und nachher in der Kälte stehen gelassen; es resultierten noch 1,7 g Phenylsemicarbazid.

Wie einige Versuche mit wässerigen Harnstofflösungen nun gezeigt hatten,¹⁾ wird die Bildung des Phenylsemicarbazids durch Erhöhung der Temperatur, also durch Kochen der Reaktionsflüssigkeit, in ziemlichem Maße beschleunigt. Ich bemühte mich nun festzustellen, nach welcher Zeit beim Kochen des Menschenharns mit Phenylhydrazin und Essigsäure die Reaktion bezüglich der Bildung von Phenylsemicarbazid ihr Ende erreicht. Zu diesem Zwecke kochte ich 200 ccm Harn mit 10 ccm Phenylhydrazin und 12 g 50%iger Essigsäure 10 Stunden mit angesetztem Rückflußkühler. Nach dem Erkalten schied sich eine beträchtliche Menge von Phenylsemicarbazid (8,1 g bei 100° getrocknet) ab; das hellgelb gefärbte Rohprodukt schmolz zwischen 168° und 170°. Die von dem Niederschlag abfiltrierte Flüssigkeit wurde nun noch weiter gekocht; ich erhielt aber kein Phenylsemicarbazid mehr. Auch bei weiterem Zusatz von Phenylhydrazin und längerem Kochen hatte sich kein Phenylsemicarbazid weiter gebildet.

Im allgemeinen ist die Grenze der Reaktion nach etwa 10stündigem Kochen erreicht; bei einigen Versuchen war sie schon nach 9stündigem Kochen des Menschenharns mit den genannten Reagenzien beendet.

Es war noch wünschenswert, festzustellen, wieviel von dem vorhandenen Harnstoff in Form von Phenylsemicarbazid zur Abscheidung zu bringen ist. Ich führte zu diesem Zwecke folgende Versuche aus: 7,4715 g trockenen Harnstoffs wurden in 400 ccm Wasser gelöst und 200 ccm, 100 ccm und 50 ccm

¹⁾ Monatshefte für Chemie, Bd. XXIX (1908).

dieser Harnstofflösung mit der entsprechenden Menge Phenylhydrazin (für 200 ccm Lösung 10 ccm) und der dem angewendeten Phenylhydrazin äquivalenten Menge 50%iger Essigsäure bis zum Erreichen der Reaktionsgrenze, d. i. 10 Stunden lang gekocht. Hierauf wurden die Flüssigkeiten 24 Stunden in der Kälte stehen gelassen; es schied sich ein Niederschlag von Phenylsemicarbazid ab. Dieses wurde in Ludwigsche Röhren abgesaugt und bei 100° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Es hatten sich im Mittel ungefähr 70% des vorhandenen Harnstoffs in Form von Phenylsemicarbazid abgeschieden. In der nachstehenden Tabelle seien die genauen Resultate angeführt.

	Harnstofflösung (18,678 g im Liter) ccm	Phenylhydrazin ccm	50%ige Essigsäure g	Erwärmungsdauer	Resultierendes Phenylsemicarbazid bei 100° getrocknet g	Harnstoff gefunden in Form von Phenylsemicarbazid %	Wirklicher Gehalt %	Gefundene Prozente des Gesamtharnstoffs
1.	200	10	12	} 10 Stunden gekocht	6,9364	1,37	} 1,87	73,7
2.	100	5	6		3,1340	1,25		67,2
3.	50	2,5	3		1,6170	1,28		68,9

Die aus den angeführten Zahlen ersichtliche Differenz zwischen dem gefundenen und dem vorhandenen Harnstoffgehalt ist darauf zurückzuführen, daß das Phenylsemicarbazid auch in kaltem Wasser etwas löslich ist und wohl ferner auch auf den Umstand, daß ein Teil des Ammoniumcyanats sich infolge Zersetzung der Reaktion entzieht.

Beim Erwärmen des Menschenharns mit Phenylhydrazin und Essigsäure scheidet sich schon in der Wärme ein brauner schmieriger Niederschlag aus, der dann das abgeschiedene Phenylsemicarbazid verunreinigt. Es ist daher vorteilhaft, diesen Niederschlag, der trotz seiner schleimigen Beschaffenheit gut filtrierbar ist, durch ein Faltenfilter von der noch heißen Flüssigkeit zu trennen und diese erst dann längere Zeit in der Kälte stehen zu lassen. Dies wurde auch immer bei den mit Menschen-

harn ausgeführten Parallelversuchen durchgeführt. Man erhält dann ein hellgelbes Rohprodukt, das bei 169/170° schmilzt. Bei diesen Versuchen war die Ausbeute eine bessere als bei jenen mit wässerigen Harnstofflösungen. Ungefähr 80% des Harnstoffs wurden hier in Form von Semicarbazid ausgeschieden. Die Harnstoffbestimmung im Menschenharn wurde nach der von Meinhard Pfaundler¹⁾ angegebenen Phosphorwolframsäuremethode vorgenommen. Die näheren Daten sind aus der Tabelle ersichtlich.

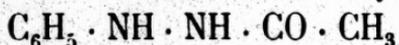
Men- schen- harn ccm	Phe- nyl- hy- dra- zin ccm	50%ige Essig- säure g	Er- wär- mungs- dauer	Resul- tierendes Phenyl- semicar- bazid (bei 100° ge- trocknet) g	Prozente Harnstoff gefunden in Form von Phenyl- semi- carbazid	Prozente Harnstoff gefunden nach Pfaundler	Ge- fundene Pro- zente des Ge- samt- harn- stoffs
1. 200	10	12	} 10 Stun- den gekocht	9,0321	1,79	} 2,20	81,3
2. 100	5	6		4,2970	1,71		77,7
3. 50	2,5	3		2,2160	1,76		80,0

Mit Rücksicht auf den Nachweis des Zuckers mit Phenylhydrazin ist es nicht unwesentlich, zu wissen, nach welcher Erwärmungsdauer der Menschenharn mit Phenylhydrazin und Essigsäure Phenylsemicarbazid in solchen Mengen liefert, daß es beim Erkalten der Reaktionsflüssigkeit zur Abscheidung kommt und somit irreführend wirken könnte. Es zeigte sich, daß fünfständiges Erwärmen auf dem Wasserbade oder zweiständiges Kochen von 200 ccm des normalen (2,2%igen) Harns und nachheriges Stehenlassen in der Kälte eine Abscheidung von ca. 0,4 g bewirken. Ist der Harnstoffgehalt größer, so wird dadurch auch die Konzentration an Ammoniumcyanat erhöht. Dies begünstigt wieder die Bildung von Phenylsemicarbazid, das dann schon nach kürzerer Erwärmungsdauer entstehen wird.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXX (1900), S. 75.

Versuche mit wässrigen Harnstofflösungen.

Bei den mit wässrigen Harnstofflösungen ausgeführten Versuchen, über die ich bereits ausführlich in den Monatsheften für Chemie berichtet habe, erhielt ich ganz andere Resultate, die ich nur noch kurz anführen will. Es zeigte sich, daß bei dreistündigem Erwärmen von 5 g Harnstoff, 50 g Wasser, 10 ccm Phenylhydrazin und 12 g 50%iger Essigsäure auf dem Wasserbade nicht, wie zu erwarten gewesen wäre, Phenylsemicarbazid, sondern, wie der Schmelzpunkt, eine Stickstoffbestimmung und ein zu Vergleichszwecken nach E. Fischer¹⁾ dargestelltes Präparat bewiesen, Monoacetylphenylhydrazin



in einer Ausbeute von 5,5 g entstanden war. Es ist also der Harnstoff mit dem Phenylhydrazin überhaupt nicht in Reaktion getreten. Eine Wiederholung des oben angeführten Versuches, bei welcher jedoch ohne Harnstoff gearbeitet wurde, bestätigte dies, indem sich wieder dieselbe Krystallmasse in ungefähr gleicher Menge (5,5 g) abschied, die als Acetylphenylhydrazin identifiziert wurde.

Ich erhielt somit noch mit zehnprozentiger Essigsäure, die nur in der dem Phenylhydrazin äquivalenten Menge vorhanden war, 5,5 g Acetylphenylhydrazin (ber. 15,2 g), d. i. 36,2% der theoretischen Ausbeute. Die Acetylierung wird partiell sogar noch mit 7%iger Essigsäure erreicht; man erhält dann allerdings nur noch 6,9% der theoretischen Ausbeute an Monoacetylphenylhydrazin.²⁾ Die Bildung von Acetylphenylhydrazin

¹⁾ Ann., Bd. CXC (1878), S. 129.

²⁾ Die leichte Acetylierbarkeit des Phenylhydrazins durch Erwärmen mit Essigsäure hat schon zu Irrtümern Anlaß gegeben. So hat Anderlini (Berichte, Bd. XXIII [1890], S. 485) beim Erhitzen von Cantharidin mit Phenylhydrazin und 50%iger Essigsäure im Ölbad auf 135—140° einen Körper erhalten, den er zuerst für eine Cantharidinverbindung hielt, später aber (Ber., Bd. XXIV [1891], S. 1993, Anm.) als Acetylphenylhydrazin identifizierte. Allerdings lag in diesem Falle noch lange keine solche Verdünnung der Essigsäure vor, auch war die Reaktionstemperatur höher als bei den von mir beobachteten Acetylierungen des Phenylhydrazins. Auch bei der Identifizierung der Erythronsäure verfielen E. Buchner, J. Meisenheimer und H. Schade (Berichte, Bd. XXXIX [1906], S. 4230)

im Harn habe ich niemals beobachtet. Es ist dies darauf zurückzuführen, daß die Essigsäure höchstens 5%ig in der Reaktionsflüssigkeit vorhanden war; diese vermag nicht mehr das Phenylhydrazin zu acetylieren.

Die weiteren Versuche mit wässrigen Harnstofflösungen haben gezeigt, daß die Erhöhung der Temperatur die Bildung von Phenylsemicarbazid begünstigt. Während durch 3stündiges Erwärmen auf dem Wasserbade (Temperatur der Flüssigkeit 91—92°) nur Acetylphenylhydrazin entsteht, resultiert beim Erwärmen im Wasser (Temperatur der Reaktionsflüssigkeit 99°) ein Gemisch von Acetylphenylhydrazin (41,5% der Ausbeute) und Phenylsemicarbazid (58,5%). Durch weitere Erhöhung der Temperatur (Kochen der Flüssigkeit 106,5°) erhält man bessere Ausbeuten; gleichzeitig steigt dann auch der Prozentgehalt an Phenylsemicarbazid (ca. 66% der ausgeschiedenen Krystallmasse).

Fasse ich nun die erhaltenen Resultate kurz zusammen, so ergibt sich folgendes:

Bei zweistündigem Erwärmen von harnstoffreichem Hundeharn mit Phenylhydrazin und Essigsäure auf dem Wasserbade erhielt ich niemals Phenylsemicarbazid; erst wenn die Dauer auf 4—5 Stunden ausgedehnt wurde, hatte sich dasselbe immer gebildet.

Katzenharn lieferte nur in einem einzigen Falle schon nach zweistündigem Erwärmen mit Phenylhydrazin und Essigsäure Semicarbazid.

Kocht man Menschenharn mit Phenylhydrazin und Essigsäure, so ist nach 10 Stunden das Ende der Reaktion bezüglich der Bildung von Phenylsemicarbazid erreicht. Es haben sich dann ungefähr 80% des Harnstoffs in Phenylsemicarbazid umgesetzt. Das erste Auftreten von Semicarbazid beobachtet man schon nach fünfständigem Erwärmen auf dem Wasser-

einem ähnlichen Irrtum. Durch Erwärmen der Erythronsäure mit Phenylhydrazin und Essigsäure erhielten sie einen Körper, der bei 128° schmolz und den sie für das Phenylhydrazid der Säure hielten; wie aber später J. Meisenheimer (Ber., Bd. XLI [1908], S. 1010) feststellte, war dieser Körper nichts anderes als Acetylphenylhydrazin.

bade oder nach zweistündigem Kochen des Menschenharnes mit den genannten Reagenzien und nachherigem Erkaltenlassen.

Wässerige Harnstofflösungen lieferten mir, wenn ich strenge nach Jaffés Vorschrift, soweit es die nicht ganz präzise Angabe bezüglich der verwendeten Essigsäuremenge zuläßt, arbeitete, nach dreistündigem Erwärmen auf dem Wasserbade Acetylphenylhydrazin oder im besten Falle beim Erhitzen im Wasser ein Gemisch von Acetylphenylhydrazin und Phenylsemicarbazid.

Nach dreistündigem Erwärmen habe ich aber niemals auch nur annähernd die Ausbeuten erhalten wie Jaffé. Bei seinem Versuche 2: «50 ccm 5%iger Harnstofflösung, 10 ccm Phenylhydrazin, mit Essigsäure stark angesäuert, 3 Stunden im Wasser erhitzt, gaben 7,17 g (berechnet 6,3 g) = 112%», hat Jaffé sogar um 12% mehr Phenylsemicarbazid erhalten, als nach der Menge des vorhandenen Harnstoffs überhaupt möglich war. Es ist dies wohl darauf zurückzuführen, daß bei diesem Versuche ein Gemisch von Phenylsemicarbazid und Acetylphenylhydrazin entstanden sein dürfte.

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Guido Goldschmiedt, gestatte ich mir an dieser Stelle für die mir bei der Ausführung dieser Arbeit in Rat und Tat zuteil gewordene Unterstützung den verbindlichsten Dank auszusprechen.
