3. Auf Physiologie und Pathologie bezügliche Methoden.

Von

K. Spiro.

Untersuchung des Harns. Die Methode der Oxydation physiologisch wichtiger, stickstoffhaltiger Körper mit Permanganat zu Harnstoff, die A. Jolles für die Harnsäure zuerst beschrieben¹⁾ und dann auch auf andere Eiweisskörper ausgedehnt hat²⁾, ist Gegenstand einer lebhaften litterarischen Discussion geworden. Einerseits haben O. Makowka³⁾ und Wogrinz⁴⁾ mit der Methode brauchbare Resultate erhalten, andererseits sind von Folin und Shaffer⁵⁾, Fr. N. Schulz⁶⁾, W. Falta (unter Huppert)⁷⁾ und G. Mátrai⁸⁾ sehr gewichtige Bedenken geltend gemacht worden, die Jolles freilich jedesmal in scharfer Kritik zu widerlegen suchte. Auf eine ausführliche Wiedergabe verzichtet Referent aus naheliegenden Gründen. Eine Originalarbeit über dies Thema von E. Richter findet sich in dieser Zeitschrift **41**, 350.

Da die quantitative Bestimmung des Harnstoffs im Harn nach Liebig kaum mehr in Gebrauch ist, mag nur kurz erwähnt werden, dass nach den Untersuchungen von J. H. Long⁹⁾ die in 10 cc normalen frischen Harn durchschnittlich vorkommenden Mengen von Ammoniak, Harnsäure und Kreatinin 2 cc Mercurinitratlösung entsprechen, eine »Correctur« um diesen Werth also anzubringen ist. Ebenso mag auch nur kurz erwähnt werden, dass immer noch, namentlich von französischen Klinikern, für die Bestimmung des Harnstoffs nach Hüfner neue Ureometer construirt werden, und dass W. Bräutigam¹⁰⁾ die Zerlegung mit Chlorkalk neuerdings wieder empfohlen hat.

Bezüglich der Ehrlich'schen Diazoreaction, über deren Ausführung vor einiger Zeit ausführlich berichtet wurde, [Diese Zeit-

1) Diese Zeitschrift **39**, 267.

2) Zeitschrift f. physiol. Chemie **32**, 363.

3) Chemiker-Zeitung **25**, 1159.

4) Oesterr. Chemiker-Zeitung 1902, No. 14.

5) Zeitschrift f. physiol. Chemie **32**, 571.

6) Zeitschrift f. physiol. Chemie **33**, 363.

7) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. zu Berlin **34**, 2674.

8) Zeitschrift f. physiol. Chemie **35**, 205.

9) The Journal of the American chemical Society **23**, 632.

10) Pharm. Zeitung **46**, 907.

schrift **39**, 733] liegt eine grosse Anzahl von Mittheilungen vor, aus denen sich ergibt, dass bei Anwendung dieser für die Klinik unzweifelhaft sehr werthvollen Probe zwei Fehlerquellen zu berücksichtigen sind: Einerseits gibt es eine Reihe von Medicamenten, die eine positive Reaction vortäuschen können, wie Naphtalinderivate, Opiumtinctur, Gerbsäurepräparate.¹⁾ Andererseits gibt es Arzneimittel, bei deren Gebrauch die Reaction sehr gestört wird; hierher scheinen besonders die aromatischen Alkohole zu gehören, und da deren beliebteste Medication das Nencki-Sahli'sche Salol ist, so ist namentlich nach dessen Gebrauch das übrigens vorübergehende Verschwinden der Diazoreaction besonders oft beobachtet worden.

Welche Harnsubstanz der Träger der Diazoreaction ist, ist bisher noch unbekannt; nach den neuesten Angaben von St. Bondzyński und K. Panck²⁾ soll es jene stickstoff- und schwefelhaltige Säure sein, welche vor 5 Jahren ziemlich gleichzeitig von R. Gottlieb, St. Bondzyński und M. Cloëtta entdeckt und von ersteren Oxyproteinsäure, von letzterem Uroprotsäure genannt wurde.³⁾

Bezüglich des Trägers der anderen Ehrlich'schen Reaction, der die Rothfärbung mit Dimethylamidobenzaldehyd gibt, hatte F. Pröscher⁴⁾ vor kurzer Zeit die Vermuthung ausgesprochen, dass der reagirende Körper ein Formylglukosamin oder Acetylpentosamin von der Formel $C_7H_{15}O_6N$ sei: nach neueren Untersuchungen von P. Clemens⁵⁾ scheint diese Annahme jedoch nicht zuzutreffen. Keines von den bekannten Aminen der Kohlehydrate zeigt die Reaction, die wohl überhaupt nicht an einen reducirenden Körper gebunden ist, da solche Harnе, welche die Reaction gaben, durchaus nicht eine (verstärkte) Reduction erkennen lassen.

Indican. Die Oxydation des Indoxyls nimmt C. Strzyżowski⁶⁾ mit 1procentiger Kaliumchloratlösung vor. Setzt man zu 15 cc des mit Bleizucker geklärten Harnes einen Tropfen dieser Lösung, dann 5 cc Chloroform und 15 cc reiner rauchender Salzsäure, so tritt nach 10—15 Minuten schon die Maximalfärbung der Chloroformschicht ein, eventuell

1) Burghart, Berliner klin. Wochenschrift **38**, 276.

2) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. zu Berlin **35**, 2962.

3) Vergl. diese Zeitschrift **37**, 411.

4) Vergl. diese Zeitschrift **40**, 193.

5) Deutsches Archiv f. klin. Medicin **71**, 168.

6) Oesterr. Chemiker-Zeitung **4**, 465.

ist noch ein zweiter oder ein dritter Tropfen der Chloratlösung zuzusetzen.

Bei Versuchen das Indican in Pflanzenzellen nachzuweisen hat Beijerinck¹⁾ zuerst eine salzsaurer Lösung von Isatin benutzt und dabei die Beobachtung gemacht, dass sich damit auch das Indoxyl des Harns nachweisen lasse. Hierauf hat dann J. Bouma²⁾ ein Verfahren gegründet, das Harnindican mittelst Isatinsalzsäure als Indigoroth zu bestimmen. Als Reagens dient eine allmonatlich frisch zu bereitende Lösung von 20 mg Merck'schen Isatins in 1 l chemisch reiner (eisenfreier) Salzsäure. Das nach der Fällung von Harn mit Bleiessig erhaltene klare Filtrat wird mit dem gleichen Volumen Isatinsalzsäure $\frac{1}{4}$ Stunde lang auf dem Wasserbade gekocht, dann mit Chloroform ausgeschüttelt, der bei 110° getrocknete Chloroformrückstand wird mit heissem Wasser gewaschen, dann in Schwefelsäure gelöst und mit Permanganat, das am besten auf reines, synthetisches Indigoroth eingestellt ist, titirt. Man bekommt so Zahlen, die doppelt so gross sind als die Menge des Harnindoxyls, da die eine Hälfte des Indigomolecöls vom Isatin geliefert wird; die erhaltenen Werthe übertreffen die der Wangschen Methode bedeutend. An Stelle der Titration kann man sich für klinische Zwecke auch mit einer colorimetrischen Bestimmung begnügen, die durch Standardlösungen von bekanntem Gehalt sehr erleichtert wird.

Zum Nachweis des Blutfarbstoffs im Harn empfiehlt statt der Guajaklösung O. Rossel³⁾ eine jedesmal frisch zu bereitende Aloinlösung, am besten eine 2procentige alkoholische Lösung von Barbadosaloin. Das ätherische Extract eines mit Essigsäure angesäuerten Harnes wird mit 15—30 Tropfen alten Terpentinöls (oder 5—10 Tropfen Wasserstoffsuperoxydlösung) und dann mit 10—20 Tropfen der Aloinlösung versetzt und gut geschüttelt; die wässrige Schicht färbt sich bald roth, später kirschroth. Die Probe soll empfindlicher sein als der Spectralnachweis.

Eiweiss. Das bekannte Spiegler'sche Reagens zum Nachweis von Eiweiss im Harn hat E. Pollacci⁴⁾ in der Art modificirt, dass er an Stelle des Glycerins Formaldehyd verwendet: Zu einer filtrirten Lösung von 1 g Weinsäure, 5 g Sublimat, 10 g Kochsalz in 100 cc Wasser

1) Kon. Ac. v. Wet. 1900, 579.

2) Zeitschrift f. physiol. Chemie **32**, 82.

3) Schweizer Wochenschr. d. Pharmacie **39**, 557.

4) Boll. chim. farm. **40**, 789.

werden 5 cc 40 procentigen Formaldehyds gefügt. Bei der Ueberschichtung geben pathologische Harne sofort, normale nach 8—15 Minuten einen Ring. Die Reaction soll noch empfindlicher sein als die Spiegler'sche, ihre Grenze bei 1 : 370 000 (für Eiereiweiss) liegen.

Dass die Anwendung von Klärmitteln bei der Bestimmung des Eiweisses im Harn zu erheblichen Fehlern führt, hat B. Grützner¹⁾ neuerdings wieder gezeigt. Weder Magnesiumoxyd, noch Talcum, Bleisuperoxyd oder auch Kieselguhr können benutzt werden, am meisten empfiehlt sich noch zum Brei zerschütteltes und wieder getrocknetes Filtrirpapier. Nach O. Schweissinger²⁾ soll immerhin Kieselguhr, da es nur in minimaler Menge, 5 cg, angewandt wird, zu kaum beträchtlichen Fehlern Veranlassung geben.

Als eine ausserordentlich werthvolle Bereicherung unser Kenntnisse über die Eiweissreactionen, sind die Untersuchungen anzusehen, welche F. Gowland Hopkins³⁾ in Gemeinschaft mit S. W. Cole angestellt hat, und die die sogenannte Adamkiewicz'sche Reaction betreffen. Dieselbe ist von Udránszky als Furfurolreaction angesehen worden, doch hat schon vor längerer Zeit E. Salkowski gezeigt, dass sie aller Wahrscheinlichkeit nach charakteristisch für eine im Eiweiss vorhandene Indolgruppe ist. Hopkins und Cole haben nun zunächst gezeigt, dass man die Probe besser als mit Eisessig mit Glyoxylsäure und concentrirter Schwefelsäure anstellt. Nicht alle Eisessigsorten geben nämlich die Reaction, sondern nur solche, die durch Stehen an der Luft oder am Sonnenlicht glyoxylsäurehaltig geworden sind, wie auch alle Präparate der Fähigkeit, die Reaction zu geben, durch einfache Destillation beraubt werden können. Als bequemes Verfahren zur Bereitung der Glyoxylsäure empfiehlt Hopkins die Reduction von Oxalsäure mit Natriumamalgam. In der That erhält man so ein ganz ausgezeichnet scharfes Reagens auf Proteide, das sehr leicht (Reduction einer gesättigten wässrigen Oxalsäurelösung durch (60 g pro Liter) Natriumamalgam in der Kälte⁴⁾ hergestellt werden kann. Den genannten Autoren ist es dann auch gelungen das Wesen der Reaction in der Art aufzuklären, dass sie die für dieselbe charakteristische Gruppe aus dem Eiweiss

1) Pharm. Zeitung 46, 77.

2) Pharm. Centralhalle 42, 104.

3) Proceedings of the Royal society 68, 21.

4) Für den Gebrauch auf's 2—3fache verdünnen.

isolirten: sie fanden unter den Spaltungsproducten, wie man sie bei der Pankreas-Verdauung der Eiweisskörper erhält, einen Körper von der Zusammensetzung $C_{11}H_{12}N_2O_2$, den man wohl als Scatolaminoessigsäure auffassen kann, deren Vorkommen im Eiweiss schon durch ältere Untersuchungen Nencki's wahrscheinlich geworden war. Referent hatte Gelegenheit, sich von der Trefflichkeit des Hopkins'schen Reagens, das das Adamkiewicz'sche vollkommen zu verdrängen geeignet ist, wiederholt zu überzeugen.

Nimmt man die Zerlegung bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl unter Zusatz von Quecksilber vor, so entstehen dabei bekanntlich Mercuriamidverbindungen, zu deren Zersetzung meist Schwefelalkali benutzt wird. Nach Mittheilung C. Neuberg's¹⁾ empfiehlt sich noch mehr der Zusatz des (käuflichen) Natriumthiosulfats, das entsprechend der folgenden Gleichung wirkt:

Der Nachweis antipyretischer Mittel im Harn ist von A. Petermann²⁾ neuerdings unter dem Gesichtspunkt wieder studirt worden, dass dieselben gelegentlich in der Veterinär-Praxis angewandt werden, um das Auftreten der Tuberculin-Reaction zu verhindern. Auf diese Untersuchungen, die wesentlich die Salicylate, Antipyrin (beides mit der bekannten Eisen-Reaction erkennbar) und Acetanilid (wird als p-Amidophenol ausgeschieden) betreffen, kann jedoch an dieser Stelle nur verwiesen werden.

¹⁾ Hofmeister's Beiträge 2, 214.

²⁾ Ann. Chim. anal. appl. 6, 4-6, 165.

Berichtigung zu Seite 485 des Bandes 41.

Von Herrn Prof. J. Wagner werde ich darauf aufmerksam gemacht, dass sein Schüler, der die Reaction zwischen Salpetersäure und Jodwasserstoff studirt hat, Eckstädt (nicht Eckstein) heisst.

Jos. Pinnow.