

Ueber den Vorgang der Harnstoffbildung im Thierkörper und den Einfluss der Ammoniaksalze auf denselben

von Prof. E. Salkowski in Berlin.

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Institutes.)

Welchen zersetzenden Einflüssen wir das Eiweiss auch unterwerfen mögen, stets sehen wir als Spaltungsproducte im Wesentlichen die Amidosäuren auftreten. Vom chemischen Standpunkt aus ist es daher von vornherein wahrscheinlich, dass die Zersetzung auch im Organismus in derselben Richtung verläuft. Wesentliche Stützen für diese Anschauungen liegen in der Erfahrung, dass diese Amidosäuren, dem Organismus einverleibt, in Harnstoff übergehen⁽¹⁾ und andererseits in dem negativen Erfolg, den die vielfachen Versuche, aus Eiweiss durch Oxydationsmittel direct Harnstoff abzuspalten, bisher gehabt haben. Auch die, zum Harnstoff in nächster Beziehung stehende, Cyänsäure entsteht aus dem Eiweiss nur unter Bedingungen, deren Realisirung im Organismus unseren Vorstellungen widerstrebt, wenn sie auch Pflüger als existent anzunehmen scheint, nämlich bei Rothglühhitze unter Gegenwart von Alkali und Sauerstoff. Andererseits sprechen physiologische Erfahrungen dafür, dass beim Uebergang des Stickstoff der Eiweisskörper in Harnstoff grosse N-freie Atomgruppen abgespalten werden: vor Allem die Bildung von Fett aus Eiweiss, die wir als normalen Stoffwechselfvorgang betrachten müssen und die sich pathologisch ausspricht in der Verfettung der Organe unter Bedingungen, wo, bei bestehendem Eiweisszerfall, die Zufuhr von Sauerstoff eine ungenügende ist.⁽²⁾ Bei

⁽¹⁾ Schultzen und Nencki, Zeitschrift für Biol., Bd. VIII., p. 138.

⁽²⁾ Vergl. Hoppe-Seyler: Med.-chem. Untersuch. p. 498; A. Fränkel in Virch.'s Arch. Bd. 66. p. 1—50.

der Bildung der Amidosäuren bleibt fast der ganze Kohlenstoff mit dem Stickstoff in Verbindung und es ist unwahrscheinlich, dass bei dem Uebergang des letzteren in Harnstoff die restirenden Atomgruppen zu Fett zusammentreten, wenngleich andererseits dieser Vorgang nicht mit Bestimmtheit ausgeschlossen werden kann. Immerhin werden wir, so lange wir die Constitution des Eiweiss nicht kennen und daher nicht im Stande sind, auf Grund theoretischer Erwägungen den Modus für die Bildung des Harnstoffs mit einiger Sicherheit festzustellen, auch auf die oben erwähnten physiologischen Erfahrungen Rücksicht nehmen müssen.

Die nachfolgenden Versuche sollen Beiträge zur Entscheidung der Frage liefern, ob wir berechtigt sind, Cyansäure als Zersetzungsproduct des Eiweiss — sei es directes oder indirectes — im Organismus anzunehmen.⁽¹⁾ Da sie im Wesentlichen Fütterungsversuche unter Berücksichtigung der Ur-Ausscheidung darstellen, so sei es mir gestattet, zunächst mit einigen Worten auf die Technik der Fütterungsversuche einzugehen.

Die Anordnung solcher Versuche ist derart, dass man einem Thiere mit constanter Harnstoffausscheidung an einem oder mehreren auf einander folgenden Tagen die zu prüfende Substanz verabreicht und feststellt, ob die Harnstoffausscheidung danach steigt und ob sie, wenn der Einfluss der verabreichten Substanz vorüber ist, aufs Neue auf den früheren Werth herabsinkt. Die constante Harnstoffausscheidung kann in den Versuchen herbeigeführt sein, entweder durch Stickstoffgleichgewicht, oder durch den Hungerzustand, oder durch eine quantitativ unzureichende Ernährung, bei welcher der Körper fortdauernd etwas von seinem Eiweissbestand zusetzt, jedoch annähernd täglich eine gleiche Menge, so dass die Harnstoffausscheidung einigermaßen constant ist.

Vom Zustand des N-Gleichgewichtes wird man in diesen

(¹) Auf die Möglichkeit des Auftretens von Cyansäure als Zersetzungsproduct der Eiweisskörper ist zuerst von Schultzen und Nencki in ihrer bekannten, oben citirten Arbeit p. 138 hingewiesen worden.

Versuchen nur wenig Gebrauch machen können. Es ist in jedem Fall für die Prägnanz der Resultate wünschenswerth, dass die, aus der eingeführten Substanz etwa neu gebildete, Quantität Harnstoff einen möglichst erheblichen Bruchtheil der normalen Harnstoffmenge darstelle. Nun stellt aber auch die niedrigste bei N-Gleichgewicht zu erreichende Harnstoffausscheidung immer noch eine ansehnliche Grösse dar und andererseits kann man mit der einzuführenden Substanz nicht beliebig steigen; in jedem Falle wächst mit der Menge der eingeführten Substanz auch der, den Körper unverändert passirende Antheil derselben und zwar stärker, als in einfacher Proportion; oft setzen auch die bei grossen Mengen hervortretenden toxischen Eigenschaften eine Grenze, die nicht überschritten werden kann. Der Hungerzustand, welcher im Prinzip als die eleganteste Versuchsform angesehen werden muss, hat bei Hunden den Nachtheil, dass es sehr schwierig ist, die heterogenen Substanzen beizubringen, da dieselben sehr häufig durch Erbrechen wieder entfernt werden. Etwaige reizende Eigenschaften treten bei der völligen Leere des Magendarmkanals stärker hervor und endlich wird durch heterogene Substanzen der Zerfall von Körpereiwässern beim Hunger mehr gesteigert, wie bei guter Ernährung. Der protahirte Hungerzustand, die mangelhafte Ernährung, empfiehlt sich dadurch, dass die Beibringung der heterogenen Substanz bei demselben kaum irgend eine Schwierigkeit macht. Ein Nachtheil desselben liegt darin, dass zur Erreichung einer einigermaassen constanten Harnstoffausscheidung eine sehr lange dauernde Fütterung erforderlich ist, und dieselbe doch schliesslich vielleicht nicht so constant ist, wie beim Hunger. Was die absolute Grösse der Ausscheidung betrifft, so ist sie nicht grösser, wie beim Hunger, ja selbst noch kleiner. Ich habe die meisten Versuche bei unzureichender Ernährung angestellt.

Eine weitere Frage erhebt sich bezüglich des Weges, auf dem die Harnstoffmenge festgestellt werden soll. Für klinische Zwecke und eigentliche Stoffwechseluntersuchungen mag die Liebigsche Titrimethode als ausreichend gelten —

es handelt sich ja hier meistens nur um die ausgeschiedene N-Menge und es ist dabei ziemlich gleichgültig, ob ein Theil des N nicht als Harnstoff, sondern in anderer Form erscheint, da alle diese anderen Formen, so viel bekannt, annähernd ebensoviel Quecksilber binden — sie ist es aber nicht mehr für Versuche in der vorliegenden Frage, wo es sich gerade um den Harnstoff als solchen handelt. Die Vernachlässigung dieses Gesichtspunktes macht z. B. die Versuche von Zabelin, ⁽¹⁾ durch welche derselbe den Uebergang von Harnsäure in Harnstoff darthun wollte, werthlos. Schultzen und Nencki sind es, die für diese Versuche die Bunsensche Methode eingeführt haben, ⁽²⁾ nachdem sie sich von der Unzulässigkeit der Liebigschen Methode bei Fütterungsversuchen mit Acetamid überzeugt hatten, von dem sie auf Grund ihrer Beobachtungen mittelst der Liebigschen Titrimethode anfangs annahmen, dass es in Harnstoff übergehe. Es liegt auch von vornherein auf der Hand, dass die Liebigsche Methode nur für normalen Harn berechnet ist. Man kann doch nicht annehmen wollen, dass alle Körper, die mit Quecksilberlösung einen Niederschlag geben oder die Endreaktion hinauschieben, Harnstoff sind! Und doch hat Zabelin diese Annahme gemacht. Was die Bunsensche Methode von allen anderen sonst noch gebräuchlichen unterscheidet, ist, dass sie nicht aus der Menge des gebildeten Ammoniak oder des erhaltenen Stickstoff Schlüsse macht, sondern aus der Menge der Kohlensäure. Sie birgt dabei allerdings die mögliche Fehlerquelle einer Entwicklung von CO₂ aus anderen Substanzen ausser Harnstoff, so aus Zucker und Eiweiss, wenn wir von der Zersetzung des Kreatin, der Harnsäure etc. auch ganz abstrahiren wollen. Man kann diese Gefahren indessen durch Untersuchung des Harns auf diese Substanzen, sowie durch eine nur schwache Alkalescenz des Bunsenschen Reagens vermeiden. Dass speziell für die Amidosäuren auch die Bunsensche Methode nicht als ausreichend erachtet

⁽¹⁾ Annal. d. Chem. und Pharm. Suppl., II p. 326.

⁽²⁾ Zeitschr. f. Biol. Bd. VIII, p. 124.

werden kann, habe ich schon an einem anderen Ort angedeutet; ⁽¹⁾ ich gehe hier nicht näher darauf ein, weil diese Ausstellungen an der Methode für die Fütterung mit Ammoniaksalzen nicht in Frage kommen und ich noch bei einer anderen Gelegenheit darauf zurückzukommen gedenke.

Die Harnstoffsteigerung an sich, wenn sie unzweifelhaft festgestellt ist, beweist nun noch nicht, dass die eingeführte Substanz in Harnstoff übergegangen ist. Voit hat schon gefunden, ⁽²⁾ dass durch grosse Quantitäten Kochsalz eine Steigerung des Eiweisszerfalles, also der Harnstoffausscheidung, herbeigeführt werden kann; dasselbe gilt vielfach auch für andere leichtlösliche Substanzen. Wie soll man nun feststellen, dass die Vermehrung der Harnstoffausscheidung nach Einführung der fraglichen Substanz auf den Uebergang derselben in Harnstoff beruht und nicht auf einer Steigerung des Eiweisszerfalles? Wir haben zwei Anhaltspunkte dafür: 1) Die Bestimmung des Gesamtstickstoffs, und 2) die Feststellung der gesammten Schwefelausscheidung.

1) Unter den gewöhnlichen Ernährungsverhältnissen und bei gesunden Thieren fallen die Werthe für $\bar{U}r$ fast zusammen, mag man sie aus dem nach Seegen bestimmten N-Gehalt berechnen oder aus der Bunsenschen Bestimmung, wie aus den später mitzutheilenden Versuchen hervorgeht; dieses Verhältniss muss dasselbe bleiben, wenn die eingeführte N-haltige Substanz in $\bar{U}r$ übergeht. Dagegen fällt die N-Bestimmung nach Seegen höher aus, wenn die Substanz nicht vollständig in $\bar{U}r$ übergeht und bei vollständig unveränderter Ausscheidung beträgt die Differenz ebensoviel, wie der N-Gehalt der eingeführten Substanz. Natürlich muss dabei festgestellt sein, dass die eingeführte Substanz resorbirt ist. Dies ergibt der N-Gehalt der Darmausscheidungen, unter Umständen auch die Untersuchung des Harns, beispielsweise der Chlorgehalt desselben bei Einführung von Salmiak, etc.

⁽¹⁾ B. d. d. chem. G. Bd. 9. p. 719.

⁽²⁾ Voit, Untersuchungen über den Einfluss des Kochsalzes, etc. p. 39.

2) Die Quelle des Stickstoffs, sowie des Schwefels in den Ausscheidungen ist das Eiweiss oder dem Eiweiss nahe-
stehende Substanzen. Schwefel und N-Gehalt stehen daher
bei einer bestimmten Fütterung auch in einem bestimmten
Verhältniss zu einander. Steigert sich die N-Ausscheidung
ohne entsprechende S-Ausscheidung, so muss der N aus einer
anderen Quelle stammen, wie aus Eiweiss. Hat nun nach
Einführung einer N-haltigen Substanz sämt-
licher N des Harns die Form von Ur , ohne dass
die S-Ausscheidung gegen die Normaltage eine
Steigerung erfährt, so stammt der Ur ohne
Zweifel von der eingeführten Substanz.

Der Schwefel des Harns erscheint beim Hund etwa zu
 $\frac{2}{3}$ als Schwefelsäure, zu $\frac{1}{3}$ in anderer Form (vorwiegend
wahrscheinlich als organische schwefelhaltige Substanz); in
den Fæces jedenfalls zum grössten Theil als S-haltige or-
ganische Substanzen: Reste von unverdaulichem Eiweiss der
Nahrung, der Secrets des Darmkanals, abgestossene Epi-
thelien, in den Verdauungstractus gelangte Haare, etc. Von
der Gesamtschwefelausscheidung erscheinen bei Fleisch-
fütterung nach meinen Beobachtungen⁽¹⁾ etwa $\frac{9}{10}$ im Harn,
 $\frac{1}{10}$ in den Fæces. Die Versuche, in denen die gesammte
S- und N-Ausscheidung in Harn und Fæces, sowie die Auf-
nahme in der Nahrung, neben der sicheren Feststellung des
Harnstoffs ausgeführt sind, sind eo ipso beweiskräftig,
während alle anderen Versuche nur bedingt als beweisend
angesehen werden können. Unter Umständen kann indessen
in der That schon die Bestimmung der Schwefelsäure-
ausscheidung im Harn als genügende Controle für den Zerfall
des Eiweiss im Körper erachtet werden, weil es feststeht,
dass eine jede Steigerung des Eiweisszerfalles von einer
Steigerung der Schwefelsäureausscheidung begleitet ist.

Die besprochenen Verhältnisse beziehen sich auf Fleisch-
fresser. Bei Pflanzenfressern, speziell Kaninchen, ist es kaum
möglich, bei diesen Fütterungsversuchen mit heterogenen

(¹) Virchow's Arch. Bd. 66.

Substanzen, bei denen die Zuführung der heterogenen Substanz sich immer nur auf wenige Tage erstrecken kann, auch die Fæces zu berücksichtigen — glücklicherweise aber auch nicht nöthig, wie aus den Versuchen hervorgehen wird. Die Substanzen sind ausnahmslos so diffusibel, dass sie, falls nicht complizirende Diarrhöen eintreten, fast vollständig in den Harn übergehen, entweder unverändert oder in Form von Harnstoff.

Auf diesen Prinzipien beruhen die Versuche, die ich über den Einfluss der Ammoniaksalze auf die Harnstoffbildung angestellt habe und die zunächst nur Nachprüfungen der, mich in hohem Grade interessirenden Angabe von Knieriem (1) waren, dass Ammoniaksalze in Harnstoff übergehen. Der Grund, warum diese Angabe mein Interesse besonders erregte, war der, dass mir einige Zeit vorher der Nachweis der Bildung von Uramidosäure aus Amidosäure im Organismus gelungen war, mit welcher dieses Verhalten des Salmiak in vollem Einklange stand.

v. Knieriem wurde durch die widersprechenden Angaben über das Verhalten von dem Organismus zugeführten Ammoniaksalzen zu einer erneuten Untersuchung dieser Frage geführt. Neubauer hatte in Versuchen an Menschen von 10 Gramm eingeführten Salmiak 9,57 Gramm wiedergefunden, Lohrer zwar keine so genaue Uebereinstimmung erhalten — von 9,4 Gramm Salmiak waren nur 7,6 Gramm wiedererschienen und die Ausscheidung hatte sich auf mehrere Tage erstreckt — immerhin war das Defizit nicht sehr erheblich. Dagegen konnte Schiffer (2) bei Versuchen an Kaninchen nach Einspritzung von kohlen-saurem Ammoniak in die Venen Ammoniak in der Expirationluft und Perspiration nicht nachweisen — auch der Harn enthielt danach keine Ammoniaksalze, wie ich mich persönlich überzeugen konnte. Zu ganz demselben Resultat gelangten Böhm und Lange (3) in ausgedehnten, haupt-

(1) Zeitschrift f. Biol. Bd. 10, p. 263.

(2) Bed. klin. Wochenschr. 1872, Nr. 42.

(3) Zeitschr. f. experim. Pathol. Bd. II, p. 364.

sächlich an Kaninchen und Katzen mit kohlen-saurem und schwefelsaurem Ammoniak, sowie mit Salmiak angestellten Versuchen. Sie machten weiterhin die höchst interessante Beobachtung, dass das Ammoniak im Blut des lebenden Thieres gebunden wird, so dass es durch einen Wasserstoffstrom bei Bluttemperatur nicht mehr ausgetrieben werden kann.

Knieriem machte nun die überraschende Wahrnehmung, dass bei einem Hunde, nach Einführung von Salmiak der, durch die Bunsensche Bestimmung bestimmte, Harnstoff im Harn zunahm. Die von ihm erhaltenen Zahlen für den Harnstoff sind folgende :

Den 7ten	3,018
» 8.	2,92
» 9.	3,229
» 10.	4,289
» 11.	3,929
» 12.	3,092
» 13.	2,899

Als Mittel für die Normaltage ergibt sich eine Harnstoffausscheidung von 3,049 Gramm. An zwei Salmiaktagen wurde ausgeschieden 8,11 Gramm, also 2,013 Gramm Harnstoff mehr, entsprechend 0,939 N. Eingeführt waren 4,0 Gramm Salmiak, 1,046 N. Die Differenz 0,107 N. entspricht fast genau dem Zuwachs an Ammoniak im Harn der Salmiaktage gegenüber den Normaltagen. Die gesammte N-Ausscheidung stieg ungefähr um ebensoviel, als N. in dem eingeführten Salmiak enthalten. Aus diesem Versuch scheint in der That hervorzugehen, dass der eingeführte Salmiak in Harnstoff übergegangen ist, indessen sind die Differenzen, um die es sich hier handelt, alle sehr geringfügig und schon aus diesem Grunde ein Versuch nicht als ausreichend anzusehen. Auch der Nachweis, dass die vermehrte Harnstoffausscheidung nicht auf der Steigerung des Eiweisszerfalles beruhe, kann nicht für genügend erachtet werden. K. hat, um dieses zu zeigen, Schwefelsäurebestimmungen im Harn ausgeführt. Die dabei für den 9., 10. und 11. erhaltenen Werthe für die

Schwefelsäure sind: 0,1197, 0,1337, 0,1333 Gramm, Zahlen, die allerdings ziemlich gut unter einander übereinstimmen, wiewohl für die normale Ausscheidung eine einzige Bestimmung auch nicht als hinreichend angesehen werden kann. Nun sind aber die Schwefelsäurebestimmungen an viel zu kleinen Harnmengen ausgeführt, nämlich an 10 Cc! Die dabei erhaltenen Mengen $Ba SO_4$ sind 0,0151, 0,0156, 0,0185 Gramm. Die Schwefelsäurebestimmungen sind keineswegs so genau, wie man früher annahm: am allerwenigsten beim Harn, für den jetzt, neben allem Anderen noch die gepaarten Schwefelsäuren Baumann's als Fehlerquellen in Betracht kommen. Der Nachweis, dass die Eiweisszersetzung keine Steigerung erfahren habe, ist somit von Kn. nicht geleistet. Nebenbei bemerkt, war der Hund keineswegs im Gleichgewicht, der Ueberschuss des N der Ausgabe gegen die Einnahme stellt vielmehr einen ganz ansehnlichen Bruchtheil der gesammten Einnahme dar.

v. Knieriem hat sich noch der grossen Mühe unterzogen, den Uebergang des Salmiak in Harnstoff auch für den Menschen durch Versuche an sich selbst festzustellen, doch können diese Versuche bei den grossen Schwierigkeiten, die sie bieten, kaum völlig beweisend ausfallen.

Ich selbst habe Versuche an Kaninchen und Hunden angestellt und bin auf's Neue in die Lage versetzt, prinzipielle Unterschiede in dem Verhalten beider Thierspezies zu konstatiren, auf die ich schon öfters, so u. A. bezüglich der Möglichkeit der Alkalientziehung, ⁽¹⁾ mit Nachdruck hingewiesen habe.

(¹) Virch. Arch., Bd. 38, p. 490.: Walter spricht freilich in einer, dieselbe Frage behandelnden, aus dem Laboratorium von Schmiedeberg hervorgegangenen Arbeit (Arch. f. exp. Pharm. Bd. 7, p. 148) von dem grossen Interesse, welches die Entscheidung der Frage nach der Möglichkeit der Alkalientziehung haben muss. Diese Frage war längst entschieden, ehe Hr. Walter seine Versuche begann: für den Hund nach der negativen Seite durch Gäthgens, für das Kaninchen nach der positiven durch mich und die auf meine Anregung entstandene Arbeit von Lassar. Ich vermag nicht abzusehen, welcher Vervoll-

Ich theile zuerst die Versuche an Kaninchen mit, weil sie allein unzweifelhafte Resultate gegeben haben, an die sich weitere Betrachtungen anknüpfen können.

Theil I. — Versuche an Kaninchen.

Bereits im Jahre 1872 und 1873 habe ich Versuche mit Acetamid, Malamid und den entsprechenden Ammoniaksalzen ausgeführt, auf die ich weiter unten zurückkomme; jedoch handelte es sich dabei nicht um Konstatirung vermehrter Harnstoffbildung. Ich stellte vielmehr nur fest, dass nach Einführung dieser Ammoniaksalze in den Magen, im Harn bei alkalischer, wie bei saurer Reaktion, nur Spuren von Ammoniaksalzen auftreten. Dasselbe ist der Fall bei Einführung von Benzamid, das nach den Versuchen von Leon v. Nencki⁽¹⁾ im Organismus gespalten wird. Diese Spaltung tritt auch bei Kaninchen ein. 2 Kaninchen wurden mit Weizenraupen gefüttert und erhielten alsdann innerhalb 4 Tage 8 Gramm Benzamid in Pillenform. Ammoniaksalze waren nicht in bestimmbarer Menge im Harn enthalten, Hippursäure so reichlich, dass der eingedampfte Harn bei Zusatz von Salzsäure sofort zu einem dicken Brei von Hippursäure erstarrte.

Versuche, die auf die Verhältnisse der Harnstoffausscheidung gerichtet sind, habe ich erst nach dem Erscheinen der Arbeit von Knieriem angestellt. Der Plan, der meinen Versuchen zu Grunde lag, war vor Allem auf

ständigung der in meiner Arbeit gegebene Nachweis noch bedurfte. Ich erkenne gerne den Fortschritt an, den Hr. W. namentlich durch die nachträgliche Zufuhr von kohlen saurem Natron bei Säurewirkung gemacht hat, sehe aber auch hierin nur eine weitere Ausführung meiner Anschauungen, ja ich habe selbst den Versuch mit kohlen saurem Natron schon gemacht, was Hr. W. nicht angiebt. Der Leser von W.'s Arbeit, der die meinige nicht kennt, schreibt W. die Entdeckung zu, dass es möglich ist, Kaninchen Alkali zu entziehen und dass diese Entziehung deletäre Folgen hat. Wie weit das mit dem wirklichen Sachverhalt übereinstimmt, wird Jeder beurtheilen können, der meine Arbeit liest.

(¹) Zeitschr. f. exp. Pathol. Bd. I p. 420.

das Verhältniss zwischen Harnstoff und Schwefelausscheidung im Harn basirt. Liess sich durch eine bestimmte Fütterung ein annähernd constantes Verhältniss zwischen diesen beiden Werthen herbeiführen, änderte sich dasselbe in entsprechender Weise bei Zufuhr von Ammoniaksalzen und ging nach derselben wieder auf den früheren Werth zurück, so war damit die Harnstoffbildung im Wesentlichen bewiesen. Gleichzeitig war es nothwendig, die Thiere auf eine möglichst niedrige Harnstoffausscheidung zu bringen, damit der Zuwachs in Folge der Ammoniakfütterung einen möglichst grossen Bruchtheil der vorherigen Menge darstelle. Bei der Wahl der Nahrung war von vornherein auf eine stark «alkalische» Beschaffenheit derselben Bedacht zu nehmen, damit, falls ein Uebergang von NH_3 in Ur stattfand, die Wirkung der bei der Spaltung des Salmiak auftretenden Salzsäure möglichst gering ausfalle. Ich wählte Kartoffeln, die von der Mehrzahl der Kaninchen längere Zeit hindurch als ausschliessliche Nahrung genommen, von einigen allerdings auch bald refusirt wurden; es blieb dann nichts übrig, als von der Benutzung derselben Abstand zu nehmen. Die Kaninchen erhielten täglich die Kartoffeln zugewogen und zwar $\frac{1}{15}$ des Körpergewichtes auf eine runde Zahl abgerundet, anfangs mit der Schaale, später ohne dieselbe. Etwa nach 10—12 Tagen dieser Fütterung, wobei an den letzten Tagen täglich 25 Cc Wasser mit der Schlundsonde eingeführt wurde, wird das Verhältniss zwischen S und N im Harn bei ein und demselben Thier constant und gleichzeitig ist meistens die Ur -Ausscheidung soweit gesunken, dass man mit dem Versuch beginnen kann. Doch hängt es natürlich von der früheren Ernährung des Thieres ab, wie weit sie sinkt. Ich will nicht behaupten, dass die Kartoffelfütterung allen Ansprüchen genügt; im Gegentheil — ich habe selbst oft genug ihre Unvollkommenheit empfunden. In den Perioden der Salmiakfütterung wurde die Tagesportion nur selten vollständig gefressen, doch hängt die mangelnde Fresslust sicher von dem durch den Salmiak erzeugten Magenkatarrh ab und wenn die Thiere sich auch in diesem Zustand zur Aufnahme eines anderen Futters

bequemen, so liegt der Anreiz hiezu nur in dem Wechsel und es ist wohl zweifelhaft, ob die Thiere irgend ein Futtermittel 1½ Monate lang unter diesen Verhältnissen genommen haben würden. Die Anwendung eines zusammengesetzten Futters hat andererseits wieder den Nachtheil, dass durch willkürliche Bevorzugung eines Bestandtheils seitens des Thieres Unregelmässigkeiten entstehen können.

— Für nicht gering gilt häufig die Schwierigkeit, den Harn bei Kaninchen einigermaassen vollständig aufzusammeln. Wenn man indessen grosse Thiere wählt, ihnen eine wasserreiche Nahrung gibt und ausserdem noch täglich Wassereinspritzungen in den Magen macht, so sind die unvermeidlichen Verluste in der That unerheblich, namentlich da es sich ja doch vorwiegend um das Verhältniss zwischen S und N handelt. Als Käfig benutzte ich entweder einen einfachen Kasten mit Zinkeinsatz — das Thier sitzt direkt auf dem stark geneigten Boden und der entleerte Harn fliesst sofort ab — oder einen sogen. Durchschlag mit hohen Seitenwänden, der in einem grossen Glastrichter steht. Das Thier sitzt in dem Durchschlag. Nach jeder Harnentleerung wird das Thier aus dem Behälter genommen, die Reste nachgespült und ausgewaschen; eine stete sorgfältige Beobachtung ist also allerdings nöthig und die Methode des Aufsammelns auch nur dann vorwurfsfrei, wenn die Darmentleerungen normale Beschaffenheit haben; so wie dieselben irgendwie dünner werden, kann der Harn nicht mehr ohne Verunreinigungen und Verluste gesammelt werden. Auch die Abgrenzung der Perioden bietet keine übermässigen Schwierigkeiten. Wenn man die Wassereinspritzungen regelmässig macht, nehmen auch die Harnentleerungen sehr bald einen regelmässigen Typus an. In der Regel folgt unmittelbar nach der Einspritzung eine reichliche Harnentleerung, welche der vorigen Tagesperiode hinzugerechnet wird. Erfolgt sie nicht spontan, so genügt ein leichter Druck auf die Blasen-egend. Um die Fehler zu verringern, welche etwa durch unvollständige Entleerung der Blase entstehen können und um mit grösseren Harnmengen operiren zu können, wurden

meistens Perioden von 3 bis 4 Tagen gewählt. Die Harnmengen übersteigen dann nicht selten 300—400 Cc.

Ein Vorurtheil, das gegen den Harn der Pflanzenfresser besteht, ist seine angebliche grosse Zersetzlichkeit; sie ist an sich nicht so gross, wie man meistens annimmt und findet sofort ihr Ende, sobald man den Harn gleich nach der Entleerung ansäuert. Das Ansäuern geschah meistens mit einer abgemessenen Menge titrirter Salzsäure (es war auch der Gehalt des Harns an HCl. zu bestimmen). Da die Versuche nicht selten an der giftigen Wirkung des Salniak oder der absoluten Nahrungsverweigerung, gelegentlich wohl auch einmal an Verletzungen beim Einführen der Schlundsonde scheiterten, so wurde der Harn in der Regel nicht sofort untersucht, sondern auf einem höchst einfachen Wege conservirt. Der gesammelte, sauer reagirende (ev. nach Säurezusatz) Harn wird durch sehr lockeres Baumwollengewebe in einen Kolben gegossen, bis zum starken Aufkochen erhitzt und der Hals alsdann mit Watte gut verstopft. Der Harn hält sich so, bei einigermaßen kühler Temperatur aufbewahrt, beliebig lange. Sollten die Analysen gemacht werden, so wurde zunächst auf ein abgerundetes Volumen verdünnt, dann erst das spec. Gew. bestimmt etc. Dieses Verfahren ersparte mir später sehr viel Arbeit, die ich sonst unnütz aufgewandt hatte. Es wurde in der Regel bestimmt: 1) Gesamt-N. nach Seegen, 2) Harnstoff nach Bunsen, 3) Chloride, 4) der Schwefelgehalt, 5) Ammoniaksalze. Häufig kam dazu noch die directe Fällung des salpetersauren Harnstoffs. Bezüglich der angewendeten Methoden habe ich nur wenige Worte zu sagen.

1) Die Seegen'sche Bestimmung wich nicht von dem allgemein gebräuchlichen Verfahren ab, höchstens wäre die Einschaltung einer Klemme auf dem Kautschukschlauch zwischen ableitenden Rohr des Kolbens und dem Absorptionsapparat zu erwähnen, die einige leicht ersichtliche Vortheile bietet. Die Luft wurde am Ende des Versuchs durch einen Aspirator durchgesaugt. Als Indicator beim Titriren diente Rosolsäure.

2) Die Bunsensche Bestimmung wurde in der von mir modificirten, schon in den Ber. d. chem. G. Bd. 9 pag. 719

beschriebenen Weise ausgeführt, jedoch kam die alkalimetrische Bestimmung meistens, die NH_3 -Bestimmung stets in Wegfall. Das eingehaltene Verfahren war folgendes: 15 Cc. Harn und 15 Cc. alkalische Chlorbaryumlösung (concentrirte Lösung von BaCl_2 mit Zusatz von 15—20 Cc. Natronlauge von 30% pro Liter) gemischt, durch ein trockenes Filter filtrirt; vom Filtrat 15 Cc. in ein, etwas BaCl_2 in Substanz enthaltende, Röhre aus schwerschmelzbarem Glas gebracht (etwas weite Verbrennungsröhre) zugeschmolzen und 4 Stunden bei etwa 220° erhitzt. Nach dem Erkalten wurde die Röhre, etwa 3 Centimtr. von ihrem obern Ende entfernt, abgesprengt, ausgespült, der BaCO_3 auf dem Filter gesammelt und mit warmem Wasser nachgewaschen. Von dem Filter wurde der kohlen saure Baryt in ein Becherglas gespült und in Salzsäure gelöst. Alsdann der in den beiden Röhrenenden hängen gebliebene BaCO_3 in verdünnter Salzsäure gelöst, die Lösung zu der obigen hinzugegossen, mit heissem Wasser gut nachgespült. Die vereinigte Lösung wurde durch das vorhin benutzte Filter, an dem mitunter noch Spuren von BaCO_3 hängen blieben, filtrirt, mit heissem Wasser in Becherglas und Filter gut nachgewaschen. Die filtrirte Lösung wurde bis nahe zum Sieden erhitzt, mit verdünnter $\text{SO}_4 \text{H}_2$ gefällt.

Ich habe erst später erfahren, dass Bunge (¹) dieses Mischungsverfahren gleichfalls angewandt und schon publicirt hat; seine Publication ist mir leider entgangen, ich würde sonst nicht verfehlt haben, ihn in meinem Aufsatz in den «Berichten» für diesen Theil des Verfahrens als Autor anzuführen, wengleich ich dasselbe schon seit mehr als 4 Jahren anwende. Der erhaltene schwefelsaure Baryt — ich glühe denselben stets mit dem Filter — wird nach dem Wägen in ein Kölbchen gespült, zum Sieden erhitzt, mit einigen Tropfen alkoholischer Rosolsäurelösung versetzt und falls dabei rothe Färbung auftritt, $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure hinzugetropft, bis die Färbung dauernd verschwindet. Für je 1 Cc verbrauchte Schwefelsäure hat man 0,004 zu dem Gewicht des BaSO_4

(¹) Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. 13 p. 128.

zu addiren. Man braucht meistens nur wenige Tropfen Schwefelsäure, sehr selten mehr wie 0,5 Cc. Das Verfahren dient dazu, die Fehler zu compensiren, die durch das Entweichen von Schwefelsäure beim Glühen des schwefelsauren Baryt entstehen können; bei etwas lang fortgesetztem Glühen zuletzt im offenem Tiegel, findet man nicht selten den schwefelsauren Baryt von alkalischer Reaction. Andererseits ist längeres Glühen nöthig, um kleine Mengen anfangs gebildeten Schwefelbaryum in schwefelsauren Baryt überzuführen. Des Glühen des schwefelsauren Baryt mit dem Filter befördert freilich die Bildung von Schwefelbaryum, ganz vermeiden lässt sie sich aber nie, da der schwefelsaure Baryt stets etwas organische Substanz enthält (bei der Schwefelsäurebestimmung in Harn noch mehr, wie im vorliegenden Fall); ich habe deshalb dem beschriebenen Verfahren als bequemer den Vorzug vor dem gesondertem Glühen von Niederschlag und Filter gegeben.

Ich muss hier noch auf einige Einwürfe eingehen, welche P. P. vor Kurzem der Bunsenschen Methode gemacht hat. P. hat gefunden, dass die Glasröhren durch die Erhitzung mit ammoniakalischer Chlorbaryumlösung sehr stark angegriffen werden und dadurch Fehler entstehen können. Ich muss ihm darin vollständig beistimmen, soweit es die von Bunsen angegebene Lösung von Chlorbaryum in Aetzammoniak betrifft. Es bildet sich dabei reichlich kiesel-saurer Baryt, der sich in Rinden vom Glase ablöst — umsomehr, je höher die Temperatur — und der durch Salzsäure zersetzt wird. Ich erhielt beim 6stündigem Erhitzen der erwähnte Lösung bei 270° nicht weniger wie 0,276 gr. dieser Rinden! P. verwirft danach die unmittelbare Anwendung von Glasröhren ganz und wendet eine in das Glasrohr eingeschobene Platinröhre an. Ich finde nun aber, dass das Glas nur ganz unbedeutend angegriffen wird, wenn man sich auf den Zusatz einiger Tropfen NH^3 beschränkt oder statt Ammoniak Natronlauge anwendet, die auch P.

(¹) Arch. Neerland. Tom. X.

empfeht, jedoch aus einem anderen Grunde. Unter die angegebene Menge von 15—20 Cc. auf 1 Liter Chlorbaryumlösung wird man indessen nicht herabgehen können, da sich bei dem Erhitzen des Harns mit der Lösung stets etwas Säure bildet und die Mischung doch neutralisirt werden könnte. Für sehr concentrirte Harn^e wird dieser Zusatz vielleicht noch etwas erhöht werden müssen. Jedenfalls darf das Glasrohr nach dem Erhitzen nicht angegriffen erscheinen; ist dieses in irgend erheblichem Grunde der Fall, so muss man die Bestimmung verwerfen. Was die sonstige Schwierigkeiten betrifft, auf die P. gestossen, so die Einwirkung der Flammengase beim Zuschmelzen, so lassen sie sich recht wohl vermeiden.

3) Die Bestimmung des Chloride geschah nach dem Schmelzen mit Salpeter. Ich fand es zweckmässig, den Harn zuerst mit reinem $\text{Na}^2 \text{CO}^3$ stark alkalisch zu machen und einzudampfen, dann erst den Rückstand mit Salpeter zu mischen. Man kommt so viel schneller zum Ziel, als wenn man von vornherein Salpeter zusetzt. Bei einem Harn, der viel Chlorammonium enthält, ist es sogar absolut nothwendig, vor dem Erhitzen mit Salpeter alles Ammoniak durch Abdampfen mit Alkali zu entfernen, sonst erleidet man leicht Verluste durch Verflüchtigung von $\text{NH}_4 \text{Cl}$. Uebrigens muss ich bemerken, dass es mir geschienen hat, als ob die grosse Quantität von Salpeter die Erkennung der Endreaktion erheblich erschwert und stört.

4) Bezüglich der S-Bestimmung habe ich meinen früheren wiederholten Bemerkungen nichts hinzuzusetzen, ausser dass auch dabei der Harn zuerst stark mit $\text{Na}_2 \text{CO}_3$ alkalisch gemacht und eingedampft wurde. Man beugt auf diesem Weg gleichzeitig einer etwaigen Zersetzung von Sulfoeyansäure (1) vor. Der erhaltene schwefelsaure Baryt, der sich durch lange fortgesetztes Waschen, mit zeitweiser intercurrente Säurebehandlung auf dem Filter, völlig von Chloriden befreien lässt, wurde wie unter 2) erörtert, behandelt.

¹⁾ Vgl. die Arbeit von J. Munk. Virch. Arch. Bd. 69.

5) Die NH_3 Bestimmung wurde nach der Neubauer-Schlösingschen Methode ausgeführt, die für den Kaninchenharn keinerlei Einwendungen unterliegen kann. Ich habe schon vor einigen Jahren darauf hingewiesen, dass der sauer reagirende Kaninchenharn nur minimale Menge von Ammoniaksalzen enthält,⁽¹⁾ wie auch J. Munk l. c. bestätigt fand. Ganz dasselbe gilt für den alkalisch entleerten Kaninchenharn, wenn er sofort oder sehr bald nach der Entleerung angesäuert wird. Für den Kaninchenharn kann also von Substanzen, die durch Kalkmilch eine tiefergreifende Zersetzung erfahren unter Abspaltung von Ammoniak, nicht die Rede sein, abgesehen von minimalen Mengen. Ich habe den Harn in den letzten Versuchen 5—6 Tage unter der Glocke stehen lassen, ohne dass die Ammoniakmenge zunahm. Setzt man nach der Beendigung der Bestimmung wieder ein Schälchen mit Säure unter die Glocke und lässt wiederum 5—6 Tage stehen, so findet man eine Abnahme von $\frac{1}{10}$, höchstens $\frac{2}{10}$ Cc. der $\frac{1}{10}$ Säure, was innerhalb der Beobachtungsfehler fällt.

Ich gehe nun zur Mittheilung der Versuchsreihen über, deren ich vom Salmiak selbst nur 3 anführen kann, während ich wohl die doppelte Zahl ausgeführt habe. Die anderen Versuchsreihen sind an verschiedenen Umständen gescheitert, vor Allem daran, dass die Thiere die Nahrungsaufnahme verweigerten, dann an eintretenden Diarrhöen oder an schneller toxischer Wirkung des Salmiak, intercurrenten Pneumonien etc.

⁽¹⁾ Virch. Arch. Bd. 58 p. 607.

Versuchsreihe I. Körpergew. 2650 Grm.; 180 Grm. Kartoffeln pro Tag.

Datum. Periode.	NH ₄ Cl zuge- führt.	N nach Seegen	N nach Bun- sen.	Ge- sammt S	S : N (nach Bunsen) 1 :	N als NH ₄ - Salz.	Bemerkungen.
I. 19. 20. 21.	0	1,372	nicht best.	0,1099	12,7	nicht best.	Futter gefressen.
II. 22. 23. 24.	0	1,323	1,271	0,0964	13,2	0,0693	do.
III. 25.—28.	4,3	3,092	2,965	0,1529	19,4	0,231	610 Gramm gefr.
IV. 29. 30. 1. 2.	0	1,467	1,593	0,1247	12,8	0,0782	circa 250 Gramm gefressen.
V. 3.—6.	0	3,204	3,204	0,2209	14,4	0,1008	do.
VI. 7.—10.	3,5	4,351	4,444	0,2613	16,7	0,1722	310 Gramm gefr.
VII. 11.—14.	0	2,397	2,399	0,1862	12,9	0,1006	äusserst wenig gefressen.
VIII. 15.—17	3,3	3,143	3,003	0,1817	16,7	0,156	

Das Kaninchen, am Ende des Versuches sehr heruntergekommen, erholte sich bei anderem Futter nicht mehr, starb nach einigen Tagen unter Diarrhöen. Sectionsbefund bis auf Catarrh des Tractus intestinalis negativ.

Als Folgeerscheinung der Ammoniakzufuhr ergibt sich:

- 1) Sehr geringe Vermehrung der Ammoniakausscheidung
- 2) Uebereinstimmung der Bunsenschen und Seegenschen Bestimmung auch unter dem Einfluss des Salmiak,
- 3) Steigerung der Harnstoffausscheidung,
- 4) Zurückbleiben der Schwefelausscheidung gegenüber der Harnstoffausscheidung.

Der Harn vom 27. reagirte sauer; ebenso alle folgenden Harnentleerungen, bis auf die von Per. V, in der die Reaction alkalisch war.

Eine genauere Betrachtung der Versuchsergebnisse ergibt Folgendes: Die Normalperioden umfassen 18 Tage. An denselben ist ausgeschieden: 1) N nach Bunsen bestimmt 9,838 Gr. 2) Schwefel 0,7381 Gr. Verhältniss von S : N = 1 : 13,3.

Die Fütterungsperioden umfassen 11 Tage. Es sind in denselben eingeführt 11,1 Gr. Salmiak = 2,904 N. Ausgeschieden an diesen 11 Tagen: 1) N. nach Bunsen 10,412 Gr. 2) S 0,5959 Gr. Verhältniss von S : N = 1 : 17,1.
— Berechnet man aus der Schwefelausscheidung der Fütte-

rungsperiode durch Multiplication mit 13,3 die dazu gehörige N-Ausscheidung, so ergeben sich 7,925 Gr. N, als der S-Ausscheidung entsprechend. Es sind also 2,487 Gr. N in Form von Harnstoff mehr ausgeschieden. Die Differenz gegen die Einfuhr von N in Form von Salmiak beträgt 0,417 Gr. Davon ist der grösste Theil in Form von Ammoniak Salz im Harn erschienen. — An 15 Normaltagen ist N in Form von Ammoniak Salz ausgeschieden: 0,354 Gr.; an 11 Salmiaktagen 0,553; auf 11 Tage entfallen normal 0,2496 Gr., es kommen somit auf Rechnung des eingeführten Salmiak 0,3034. Im Ganzen wäre danach von N des Salmiak wieder erschienen 2,7964 Gr.: Verlust 0,1076. Die ganze Rechnung ist natürlich nur approximativ. Bemerkenswerth ist die Steigerung der Ur-Ausscheidung in der Periode V. Sie fällt zusammen mit der beginnenden Verweigerung der Nahrungsaufnahme und ist offenbar davon abhängig. — Eine Nebenwirkung des Salmiak ist die Steigerung des Eiweisszerfalles. An 18 Normaltagen beträgt die N-Ausscheidung 9,838 Gr., also auf 11 Tage berechnet 6,012 Gr.; die S-Ausscheidung auf 11 Tage umgerechnet 0,4516 Gr. An den 11 Fütterungstagen nach Abzug von 2,487 Gramm N, die von den in Ur-umgewandelten NH_3 abstammen, 7,925 Gr. und selbst, wenn man allen mit dem Salmiak eingeführten N abzieht, immer noch 7,508 Gr.; also eine unzweifelhafte Steigerung gegenüber den Normaltagen. Dem entsprechend ist nun noch die Schwefelausscheidung grösser, nämlich 0,595 Gr. Berechnet man das Verhältniss dieser Schwefelausscheidung zu 7,925 Gr. oder 7,508 Gr., so erhält man: 1 : 13,3 resp. 1 : 12,6. Man sieht also, dass das Verhältniss zwischen N und S auch in der Salmiakperiode ganz unverändert geblieben ist, sofern man von dem mit dem Salmiak eingeführten resp. als Ur ausgeschiedenen N abstrahirt; dieser Harnstoff kann also unmöglich auf vermehrten Eiweisszerfall zu beziehen sein. Was die Vermehrung des Eiweisszerfalles durch den Salmiak betrifft, so liegt sehr nahe, hierbei an die bei der Spaltung des Salmiaks freiwerdende Salzsäure zu denken, welche dem Körper Alkali

entziehen musste. Dieses Alkali haben die Gewebe zum Theil durch gesteigerten Zerfall hergegeben. Die Wirkung der Salzsäure musste umso mehr hervortreten, als das Thier sehr wenig frass, die Wirkung des alkalischen Futters also nicht zur Geltung kam.

Ich habe in diesem Falle auch die Ausscheidung der Chloride bestimmt, doch lassen sich bei der Unregelmässigkeit der Nahrungsaufnahme gut übereinstimmende Zahlen nicht erwarten. Berechnet als Na Cl. betrug die Ausscheidung:

Periode I.	1,035 Gramm	Periode V	1,361 Gramm
» II.	1,080	» VI	2,784
» III.	4,415	» VII	2,123
» IV.	2,521	» VIII	3,027

Im Ganzen sind 18,346 Na Cl in 29 Tagen ausgeschieden.

Zur Bildung einer Mittelzahl für die Normaltage sind wohl nur die beiden ersten Perioden zu verwenden. Mit Zugrundelegung desselben würde die Normalmenge 10,222 Gramm betragen, es bliebe also an den Salmiaktagen ein Plus von 8,124 Gramm, während die eingeführten 11,1 Gramm $\text{NH}_4 \text{Cl}$ 12,15 Na Cl entsprechen. Es ergibt sich also ein erhebliches Deficit, das sich indessen wohl durch das Abbrechen des Versuches und die geringe Nahrungsaufnahme in den spätern Perioden hinreichend erklärt. In Periode III ist noch die Alkaleszenzabnahme bei der Bunsenschen Bestimmung festgestellt; die Alkaleszenz betrug vor dem Erhitzen 14,3 Cc. $\frac{1}{10}$ Lauge, nach dem Erhitzen 11,0 Cc. — Differenz 3,3 Cc. (für 15 Cc der Harnbarytmischung).

**Versuchsreihe II. Körpergewicht 2550 Gramm, 150 Gramm
Kartoffeln pro Tag.**

Datum. Periode.	$\text{NH}_4 \text{Cl}$ zuge- führt.	N nach Seegen.	N nach Bunsen.	S.	S: N. 1:	N als $\text{NH}_4 \text{Salz}$
I. 22-25, 76=4 Tage	0	2,240	2,089	0,1750	12,8	nicht best.
II. 26-29=4 Tage	5,0	4,956	4,887	0,291	16,9	0,1085
III. 30-3, =4 Tage	0	nicht best.	4,41	0,3197	13,9	nicht best.
IV. 4-7, =4 Tage	0	3,002	2,803	0,2558	11,7	nicht best.

Der Harn der Salmiakperiode, sowie der der beiden darauf folgenden Tage reagirte sauer, die anderen Harnentleerungen alkalisch.

Die Normalperioden umfassen 12 Tage. An diesen Tagen sind ausgeschieden: 1) N nach Bunsen 9,333 Gramm. 2) S 0,7503 Gramm. Verhältniss von S : N = 1 : 12,44. Für 4 Tage berechnet sich N zu 3,111, S zu 0,252 Gramm. Berechnet man aus der S-Ausscheidung der Salmiakperiode die zugehörige N-Menge, so ergibt sich 3,6084 Gramm. Es sind ausgeschieden 4,887 Gramm, also 1,279 Gramm mehr. Eingeführt sind 5,0 NH₄ Cl. mit 1,308 N. — Die Uebereinstimmung ist also eine sehr nahe. Die Steigerung der S-Ausscheidung weist darauf hin, dass auch in diesem Fall der Eiweisszerfall eine Steigerung erfahren hat. In der That beträgt auch die Differenz zwischen der ausgeschiedenen N-Menge der Fütterungsperiode und dem Mittel 4,776 Gramm, also mehr, als dem N des Salmiak entspricht. — Die Alkalitätsabnahme bei der Bunsenschen Bestimmung betrug in Periode II 3,1 Cc ¹/₁₀ Normal Alkali, in Periode III 2,9 Cc. Es sind in dieser Versuchsreihe noch direkte Harnstoffbestimmungen gemacht. Zu dem Zweck wurden 50 Cc Harn abgedampft, auf 0° abgekühlt und mit Salpetersäure gefällt, nach 12—24 Stunden abfiltrirt und abgepresst. Der salpetersaure Harnstoff mit Wasser übergossen, mit BaCO₃ und einigen Tropfen BaH₂O₂ behandelt, filtrirt, nachgewaschen bis zum Vol. von 50 Cc. Vom Filtrat wurden alsdann 20 Cc genommen und mit Quecksilberlösung titirt. Es ergab sich so der Ur-Gehalt (ohne Correcturen) für Per. I: 2,22; Per. II: 7,525; Per. III: 6,30; Per. IV: 3,64. Es ist nicht auffallend, dass die Differenzen im Harnstoffgehalt grösser erscheinen, als es nach Ausweis der Bunsenschen Bestimmung der Fall sein sollte, denn der Fehler ist bei demselben Harnvolumen ein absoluter, kein relativer. Nehmen wir z. B. an, es entzögen sich bei dieser Methode in Folge der Löslichkeit des salpetersauren Harnstoffs 2,3 Gramm Ur der Bestimmung und addiren wir diese Grösse zu den obigen Zahlen, so erhalten wir: 4,32—9,825—8,6—5,94 Gramm, während

die Ur-Menge nach Bunsen beträgt: 4,48—10,47—9,45—6,0. Diese Werthe stimmen, wie man sieht, mit den corrigirten ziemlich gut überein. Von einer direkten Wägung des salpetersauren Harnstoffs wurde Abstand genommen, weil sich Verunreinigungen desselben, namentlich mit salpetersaurem Kali, nicht sicher ausschliessen lassen.

Als allgemeines Resultat ergibt sich also auch hier wiederum: unzweifelhafte Steigerung der Harnstoffausscheidung, welche nur z. Th. auf vermehrtem Eiweisszerfall zu beziehen ist. Nach Ausweis der Schwefelbestimmung beträgt die auf den Salmiak zu beziehende Harnstoffsteigerung fast genau soviel, wie dem N-Gehalt des Salmiak entspricht. Ein kleiner Theil des Ammoniak ist unverändert ausgeschieden.

Versuchsreihe III. Körpergewicht 1700 Gramm; 120 Gramm Kartoffeln pro Tag.

Datum. Perioden.	NH ₄ Cl einge- führt.	N nach Seegen.	N nach Bunsen.	S im Harn.	S: N (nach Bunsen) 1:	N als NH ₄ - Salz.
10-13 4 Tage. I.	0	1,629	nicht best.	0,0835	19,4 _h	nicht best.
14-17 4 Tage. II.	0	1,557	1,692	0,0819	20,6	0,028
18,19,20 3 Tage III.	3,3	2,458	2,480	0,0934	26,5	0,078
21-24 4 Tage. IV.	0	1,422	1,589	0,0926	17,2	0,042
25-28 4 Tage. V.	0	1,422	1,506	0,0747	20,1	0,028
29, 1-1/2 4 Tage. VI.	4,4	2,795(?)	3,008	0,1286	23,4	0,062
2, 3, 4 2 1/2 Tage. Per. VII.	0	nicht best.	1,216	0,1058	11,6	nicht best.

Das Kaninchen frass bis zum 20. das Futter auf, am 21. wurde nur 73 Gramm Kartoffeln gefressen. Die Salmiak-einspritzungen sollten 4 Tage hinter einander gemacht werden, mussten aber auf 3 Tage beschränkt werden, weil das Thier Durchfall bekam. Am 21. 79 Gramm gefressen, von da ab wieder alles. Das Thier äusserte gegen Ende der Versuchsreihe lebhaften Hunger, erschien aber noch am 42 durchaus munter. Am 52 früh wurde es todt gefunden, mit enormen Meteorismus, Atelectase der Lungen, strotzender Füllung des rechten Herzens. Die Schleimhaut des Darmes

nur mässig geschwollen und geröthet. Der Harn reagirte alkalisch, nur in den Salmiakperioden sauer; auch der Harn vom 21. und 2. reagirte sauer. Die Per. VII ist zu 2 $\frac{1}{2}$ Tagen gerechnet.

An den 18 $\frac{1}{2}$ Normaltagen ist ausgeschieden: 1) N 7,632 Gramm. 2) S 0,4384 Gramm, also S : N = 1 : 17,4. — An den 7 Salmiaktagen ist ausgeschieden: 1) N 5,488 Gramm. 2) S 0,222. N : S = 1 : 24,7. Berechnet man aus der S-Ausscheidung der Salmiaktage die dazu gehörige N-Ausscheidung ($0,222 \times 17,4$), so ergibt sich 3,863 Gramm, also in den Salmiaktagen ein Plus von 1,625 Gramm. Eingeführt sind 7,7 Gramm Salmiak mit 2,015 N. Die Uebereinstimmung ist nicht so gut, wie in den früheren Versuchen. Die Differenz wird zum Theil noch durch die vermehrte NH₃-Ausscheidung gedeckt, die in diesem Fall jedoch ausserordentlich gering ist. An den 7 Versuchstagen betrug der in dieser Form ausgeschiedene N 0,140, an 12 Normaltagen 0,098, für 7 Tage also 0,0572; es bleiben somit 0,0828 Gramm N als vom Salmiak herrührend. Die Schwefelausscheidung im Harn beträgt an den Normaltagen pro Tag 0,0237 Gramm, an den Salmiaktagen 0,0317 Gramm, somit ist auch in diesem Versuch, wie in den beiden vorhergehenden eine Steigerung des Eiweisszerfalles eingetreten. Die Bestimmung der Chloride ergab folgende Zahlen für Na Cl:

Periode I u. II (8 Tage) 2,440 Gramm.

»	III	(3	»)	2,97	»	(Salmiak)
»	IV	(4	»)	1,81	»	(Kein Salmiak)
»	V	(4	»)	1,37		
»	VI	(4	»)	4,938	»	(Salmiak).

Im Ganzen sind ausgeschieden, als Na Cl berechnet 13,528 Gramm an 23 Tagen. Zur Feststellung der normalen Ausscheidung können wohl wiederum nur die beiden ersten Tage benutzt werden. Die mittlere tägliche Ausscheidung beträgt demnach 0,305 Gramm, also für 23 Tage 7,015 Gramm, an den Versuchstagen somit eine Mehrausscheidung von 6,513 Gramm. Der eingeführte Salmiak entspricht dagegen 8,606 Gramm Na Cl. Eine genaue Uebereinstimmung ist aus den

früher erörterten Gründen nicht zu erwarten. Sehr auffällig ist bei diesem Versuch noch die weit geringere relative Schwefelausscheidung. Ich glaubte sie anfangs mit dem Umstand in Verbindung bringen zu können, dass dieses Kaninchen Kartoffeln ohne Schalen bekommen hatte, allein bei Fütterung anderer Kaninchen damit zeigte sich keine so geringe S-Ausscheidung. Ich weiss keine bestimmte Erklärung für dieses Verhalten zu geben.

Mit Rücksicht auf die Steigerung der Harnstoffausscheidung als Folge eines Eingriffes, hat es ein gewisses Interesse, zu sehen, wie sich das Verhältniss zwischen N und S bei reichlicher Ernährung gestaltet und bei Zuführung einer Substanz, welche, wie ich am Hunde gefunden habe, den Stoffwechsel ansehnlich steigert, nämlich von Benzoësäure.

Versuchsreihe IV. Körpergewicht 2270 Gramm.

Datum.	N nach Seegen.	N nach Bunsen.	Gesamt-S.	S: N (nach Bunsen).	N als NH ₄ -Salz.
20. 21. 22.	4,547	4,771	0,3091	1: 15,4	0,0255
23. 24. 25.	3,861	3,819	0,2927	1: 13,0	0,0548

Das Kaninchen erhielt nach gemischtem Futter Kartoffeln ad libitum, die es reichlich frass, und wurde einige Tage nach Beginn der Kartoffelfütterung zum Versuch genommen. Auch bei reichlicher Harnstoffausscheidung ist also das Verhältniss zwischen Schwefel und Stickstoff annähernd dasselbe wie bei geringer Harnstoffausscheidung. Bei den beiden Bunsen'schen Bestimmungen ist noch die Alkaleszenzabnahme bestimmt. Dieselbe betrug in dem einen Fall 3,1 Cc, im zweiten 4,3 Cc ¹/₁₀ Normallauge.

Versuchsreihe V. Körpergewicht 2100 Gramm, 140 Gramm Kartoffeln pro Tag.

Datum. Periode.	N nach Seegen.	N nach Bunsen.	Gesamt-S.	S: N = 1:	N als NH ₄ -Salz.	Be-merkungen.
I. 21-24, 77 = 4Tg.	nicht best.	2,051	0,1747	1: 11,7	0,0244	Am 4. 5. 6.
II. 25-28 = 4 Tg.	1,758	1,686	0,1445	1: 11,7	nicht best.	je 1 Gramm
III. 1. 2. 3 = 3Tg.	verloren	0,981	0,1026	1: 9,7 (5)	do.	Acid benzon
IV. 4. 5. 6 = 3 Tg.	2,31	nicht best.	0,1767	1: 13,0	do.	als Natrou- salz.

Die Stickstoffausscheidung in Periode IV ist erheblich höher, wie in Periode III, die Benzoësäure hat also auch beim Kaninchen eine Steigerung des Eiweisszerfalles bewirkt. Die Schwefelausscheidung ist fast proportionnel damit angestiegen, jedenfalls liegt das Verhältniss zwischen S und N in den gewöhnlichen Grenzen. Die Benzoësäure ist zum grössten Theil als Hippursäure ausgeschieden. Der abgedampfte Harn erstarrte bei Zusatz von Salzsäure sofort zu einem Brei von Hippursäurekrystallen. Der aus 100 Cc Harn nach dem Eindampfen und Säurezusatz erhaltene Niederschlag wurde abfiltrirt, mit Wasser nachgewaschen, getrocknet, zur Entfernung von Benzoësäure mit Benzol behandelt und aus heissem Wasser umkrystallisirt: es wurden so erhalten 0,627 Gramm Hippursäure, für die ganze Periode also 1,881 Gramm. Dieser Befund steht in Widerspruch mit einer Angabe von Weiske⁽¹⁾ nach welcher bei Pflanzenfressern, wenn dieselben ein nicht Hippursäure bildendes Futter erhalten, auch eingegebene Benzoësäure unverändert ausgeschieden wird. Ich habe die Bildung von Hippursäure aus Benzoësäure bei ausschliesslicher Fütterung mit Kartoffeln schon öfters constatirt. Das von Weiske am Hammel festgestellte Factum darf also nicht verallgemeinert werden. Der Harn zeigte übrigens ein ausserordentlich starkes Reductionsvermögen für Kupferoxyd, Wisnuthoxyd, Silberoxyd, war jedoch ohne Einwirkung auf die Polarisationslinie und nicht gährungsfähig. Die Natur dieser reducirenden Substanz und ihr Zusammenhang mit der Einführung der Benzoësäure muss einstweilen dahingestellt bleiben. Der Harn der vorhergehenden Periode enthält weder Hippursäure (oder Benzoësäure), noch die reducirende Substanz.

Dem Uebergang von Ammoniak in Harnstoff glaube ich durch die vorliegenden Versuche soweit bewiesen zu haben, als dies überhaupt möglich ist. Es ist keine Erscheinung beobachtet, die durch diese Hypothese nicht erklärt wird und ich vermag keine Hypothese zu finden, welche die beobachteten Erscheinungen in gleich befriedigender Weise er-

(1) Zeitschr. f. Biol. Bd. XII. p. 263.

klärt. Dass eine Vermehrung der Harnstoffausscheidung in Folge von Salmiakfütterung eintritt, ist direkte Beobachtung. Die Bunsensche Methode, verbunden mit der Alkalicitätsbestimmung bei derselben, sowie die direkte Ausfällung des salpetersauren Harnstoffs zeigt die ansehnliche Steigerung der Harnstoffausscheidung an. Diese Harnstoffsteigerung kann nur 2 Quellen haben, entweder das Eiweiss des Körpers oder den N des Salmiak. Nähmen wir die erstere Quelle an, so bliebe eine Reihe von Erscheinungen unerklärt. Unerklärt bliebe das Verschwinden des dem Salmiak angehörenden Stickstoffs im Körper, unerklärt bliebe das Auftreten der sauren Reaction im Harn und das relative Sinken der Schwefelausscheidung. — Im hohen Grade überzeugend wirkt die Uebereinstimmung der aus dem Salmiak berechneten Zunahme des Harnstoffs und der aus den Verhältnissen der Schwefelausscheidung abgeleiteten thatsächlichen Vermehrung. Im Körper der Kaninchen geht der Stickstoff eingeführter Ammoniaksalze zum grössten Theil in Harnstoff über. Diese Thatsache halte ich für definitiv bewiesen.

Auf welchem Wege erfolgt dieser Uebergang und welche Schlüsse können wir daraus für den Bildungsmodus des Harnstoffs unter normalen Verhältnissen ziehen? Soweit ich sehen kann, liegen nur 2 discutirbare Möglichkeiten vor, die beide auch schon von Knieriem erwähnt sind. Man kann sich 1) vorstellen, dass sich aus dem Salmiak in Berührung mit dem alkalischen Blut und den alkalischen Gewebsflüssigkeiten kohlen-saures Ammoniak bildet und dieses unter Verlust von Wasser in Harnstoff übergeht — dieses wäre der umgekehrte Vorgang, wie er bei der fermentativen Zersetzung des Harnstoffs stattfindet, eine Anhydridbildung 2) dass das Ammoniak im Körper Cyansäure trifft, sich mit dieser verbindet und das cyansaure Ammoniak in Harnstoff übergeht, was ausserhalb des Körpers regelmässig bei gelindem Erwärmen eintritt. Sind Versuchsanordnungen denkbar, welche die eine oder andere Möglichkeit definitiv beweisen? Ich habe mehrere dahin zielende Wege eingeschlagen, es scheint mir jedoch

zweckmässig, ehe ich darüber berichte, die Frage zu erörtern, ob das Auftreten von Cyansäure bei der Zersetzung von Eiweiss überhaupt angenommen werden kann resp. angenommen werden muss. Denn nur, wenn sich diese Frage bejahen lässt, wird die 2te Möglichkeit überhaupt noch discutirt werden können.

Es sind jetzt fast 5 Jahre her, dass Schultzen durch einen in der deutschen chemischen Gesellschaft gehaltenen Vortrag, der alsdann in abgekürzter Form auch in die Berichte derselben überging,⁽¹⁾ die medicinische Welt, ja alle naturwissenschaftlichen Kreise allarmirte. — Schultzen war selbst von dem von ihm und Nencki gegebenen Nachweis des Ueberganges von Glycocoll in Harnstoff noch nicht vollkommen befriedigt. Schultzen sagte sich, dass dieser Nachweis dann keinen Schatten des Zweifels mehr übrig lasse, wenn es gelang, nach Einführung eines typisch gezeichneten Glycocoll einen Harnstoff mit derselben Marke aufzufinden (es ist dieses, wie man sieht, derselbe Weg, der auch bei der Benzoësäure zum Ziel geführt hatte). Sch. versuchte zuerst Phenylglycocoll, dann, als sich dieses zu giftig erwies, Methylglycocoll, Sarkosin. Nach dem ganzen Gedankengange ist es unzweifelhaft, dass Sch. ursprünglich darnach Methylharnstoff oder, da 2 Mol. Glycocoll zu einem Mol. Harnstoff zusammentreten müssen, Dimethylharnstoff erwarten musste. Diesen Körper fand nun Sch. nicht, wohl aber — seiner Angabe nach — einen andern, der immer noch als substituirtes Harnstoff betrachtet werden kann — einen Körper, der nach der einen Seite hin Harnstoff ist, nach der andern Sarkosin und den Schultzen sich entstanden dachte durch Vereinigung von Sarkosin und Carbaminsäure unter Austritt von Wasser. Ich nannte ihn später, der Kürze halber, Sarkosincarbaminsäure. Sch. hielt diese Substanz für den Repräsentanten einer neuen Klasse von Verbindungen: er sagt «die neuen Körper sind bisher ohne Analogien und ihre synthetische Darstellung wird gewiss keine Schwierigkeiten haben. So wird der oben beschriebene

(1) Ber. d. d. chem. G. Bd. 5 p. 578.

substituirt Harnstoff vermuthlich durch Einwirkung von Cyansäureäther auf Sarkosin, entstehen, ein Versuch, den ich nächstens anstellen werde.» Es war ihm entgangen, dass die entsprechende Verbindung für das Glycocoll selbst schon lange als Hydantoinensäure bekannt war, dass dieselbe Säure von Griess durch Einwirkung von Glycocoll auf schmelzenden Harnstoff dargestellt,⁽¹⁾ wenn auch, wie es scheint, nicht als Hydantoinensäure erkannt war, dass das Anhydrid seiner (Schultzen's) Säure bereits als Methylhydantoin beschrieben war, ja dass kurze Zeit vor seiner Entdeckung Menschutkin die Darstellung von Uramidobenzoësäure aus Amidobenzoësäure und Kaliumcyanat angegeben und diese Säure ausführlich beschrieben hatte⁽²⁾ — kurz Sch. war die Uebereinstimmung seiner Säure mit den Uramidosäuren oder Uraminsäuren und speciell mit der Methylhydantoinensäure entgangen. Merkwürdigerweise blieb die Behauptung von Sch., dass sein Körper neu und ohne Analogieen sei, ohne Widerspruch und ich muss gestehen, dass auch ich mich lange Zeit hindurch durch die Sicherheit, mit der diese Behauptung aufgestellt wurde, täuschen liess und mir erst später klar wurde, dass zwischen diesen Substanzen und den Uramidosäuren kein Unterschied existire. Die Angaben von Schultzen schienen, soweit sie die Bildung von Uramidosäure betrafen, durch meine Beobachtungen am Taurin vollständige Bestätigung zu erfahren. Ich fand nach dem Einnehmen von Taurin im menschlichen Harn, in geringerer Menge auch im Hundeharn, eine Säure, welche der Säure von Schultzen vollständig analog war und welche ich zuerst Taurocarbaminsäure nannte. Kurze Zeit darauf erhielt ich dieselbe Säure durch Erwärmen von Taurin mit einer Lösung von Kaliumcyanat, wobei unter Anwendung äquivalenter Verhältnisse nichts als das Kaliumsalz der Uramidoisäthionsäure erhalten wird.⁽³⁾ Hoppe-Seyler und Baumann stellten dann den Schultzenschen Körper.

(¹) Ber. d. d. chem. G. II. p. 106.

(²) Annal. d. Chem. Pharm. Bd. CLIII. p. 83.

(³) Ber. d. d. chem. G. Bd. VI. p. 1191.

die Methylhydantoinsäure, aus Sarkosin und Kaliumcyanat dar.⁽¹⁾ Ich hatte mich gleichfalls mit dieser Reaction beschäftigt, ⁽²⁾ jedoch hatte mir der leichte Uebergang der Säure in das Anhydrid Schwierigkeiten gemacht. Baumann zeigte dann, ⁽³⁾ dass die Methylhydantoinsäure durch Einwirkung von Carbaminsäure nicht erhalten werden kann, ferner, dass sie aus Harnstoff und Sarkosin in alkalischer Lösung bei Körpertemperatur gleichfalls nicht entsteht, wenn auch durch Kochen von Sarkosin und Harnstoff mit Barytwasser. Dadurch war es wahrscheinlich gemacht, dass die Bildung von Uramidosäure auch im Organismus durch direkte Anlagerung von Cyansäure erfolgt.

Gegen die Bildung aus Harnstoff spricht, beiläufig bemerkt, auch der Umstand, dass nach der Einführung von Taurin die Ammoniakmenge im Harn nicht zunimmt. ⁽⁴⁾

Während so der Vorgang bei der Bildung der Uramidosäure festgestellt war, hatte eine Nachprüfung der Angaben von Schultzen, vielleicht wegen der Kostbarkeit des Materials, noch von keiner Seite stattgefunden. Ein zuerst von mir mit Sarkosin ausgeführter Fütterungsversuch ⁽⁵⁾ hatte nicht den Zweck, die Richtigkeit der Angaben von Schultzen zu prüfen — für mich lag nach meinen durchaus analogen Beobachtungen am Taurin am allerwenigsten Grund zu Zweifeln vor — ich ging vielmehr von der Voraussetzung aus, dass diese Angaben richtig seien. In dieser Voraussetzung sollte geprüft werden, ob die, zur Bildung der Methylhydantoinsäure nach Einführung von Sarkosin, erforderliche Cyansäure auf Kosten des Harnstoffs entstehe oder die Harnstoffbildung davon unberührt bleibe und neues Eiweiss zur Uramidosäurebildung zersetzt werde. Ich gehe hier nicht näher auf den Versuch ein und bemerke nur, dass das Resultat ein ganz unerwartetes war, und mit der Bildung einer irgend erheblichen

(¹) Ber. d. d. chem. G., Bd. VII, p. 34.

(²) Ebendas. Bd. VII, p. 116.

(³) Ebendas. p. 237.

(⁴) Virchow's Arch. Bd. 58. p. 618.

(⁵) Ber. d. d. chem. G. Bd. VIII. p. 116.

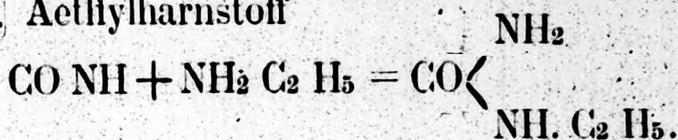
Menge Methylhydantoin-säure nicht in Einklang gebracht werden kann. Die Bildung einer geringen Menge der Säure liess sich, der Natur der Sache nach, durch einen Stoffwechselversuch nicht ausschliessen. Da mir ausserdem nur eine Versuchsreihe vorlag, so war ich nicht berechtigt, die Angaben von Schultzen für unrichtig zu erklären. Dieses geschah durch eine darauffolgende Arbeit von Baumann und v. Mering, durch die festgestellt wurde, dass eine irgend merkliche Menge dieser Säure sich im Organismus nicht bildet, das Sarkosin vielmehr unverändert ausgeschieden wird. (1) Immerhin scheint mir die Bildung — einer vielleicht nicht grossen Menge — von Methylhydantoin durch die vorliegenden Versuche noch nicht sicher ausgeschlossen. (Beiläufig bemerke ich noch, dass ich bei der Untersuchung des, nach Sarkosinfütterung entleerten, Harns die von mir selbst gerügten Fehler der Methode von Schultzen natürlich vermieden habe. Ich berichtige gleichzeitig eine Auffassung meiner Mittheilung von Seiten Baumann's und von Mering's, die dem nicht entspricht, was ich habe sagen wollen, wobei ich übrigens zugeben will, mich vielleicht nicht hinreichend deutlich ausgedrückt zu haben. Die Untersuchung des Sarkosinharns hat mir nichts anderes ergeben, wie die Stoffwechseluntersuchung; nämlich: ich habe die Möglichkeit der Bildung einer geringen Menge der Säure nicht ausschliessen können, keineswegs aber habe ich aussagen wollen: «ich habe Methylhydantoin-säure erhalten, jedoch nur eine geringe Menge.» Hätte mir ein so positives Resultat vorgelegen, so würde ich gewiss nicht versäumt haben, mich genauer darüber zu äussern. Das Wort «angab» l. c. auf p. 118 Zeile 10 von unten ist übrigens ein Druckfehler für «ergab.») Meine Angaben über das Taurin werden natürlich nicht im Geringsten dadurch berührt, dass sich die Schultzen's über das Sarkosin nicht bestätigt haben. Die Bildung der Uramidosäure aus dem Taurin ist unzweifelhaft und ich benutze diese Gelegenheit, um ausdrücklich zu erklären, dass ich alle meine Angaben darüber

(1) Ber. d. d. chem. G. Bd. VIII, p. 584.

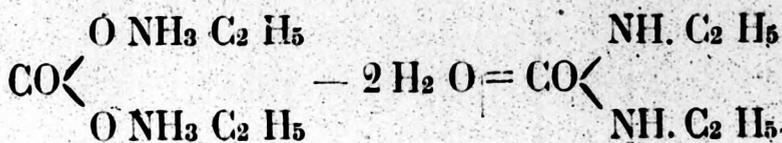
in vollem Umfang aufrecht erhalte. Ich habe inzwischen auch aus Amidobenzoësäure sowohl beim Menschen, wie beim Hund und Kaninchen eine Säure erhalten, die unzweifelhaft in die Reihe der Uramidosäuren gehört, wiewohl die Analysenzahlen noch keine vollständige Uebereinstimmung mit Uramidobenzoësäure zeigen, ein Punkt, der noch der Aufklärung harret. Ich lege auf die Bildung von Uramidobenzoësäure beim Kaninchen deshalb Gewicht, weil sonst keine Beweise für die Fähigkeit der Uramidosäurebildung bei diesem Thiere vorliegen. (Das Verhalten subcutan eingeführten Taurins bedarf noch einer erneuten Untersuchung.) Es kann nach alledem nicht bezweifelt werden, dass bei dem Zerfall des Eiweiss im Körper Cyansäure auftritt und die Bildung von Harnstoff aus Ammoniak auf diesem Wege hat an und für sich schon grosse Wahrscheinlichkeit, unsomehr, als wahre Anhydridbildungen, wie der Uebergang von kohlensaurem Ammoniak in Harnstoff, bisher nicht nachgewiesen sind.

Kehren wir nun zu der oben aufgeworfenen Frage zurück, so sind mir bisher 3 Versuchsanordnungen eingefallen, welche geeignet sind, dieselbe zu fördern.

1) Das Verhalten substituirtter Ammoniake, des Methyl-, Aethyl-, Amylamin. Entsteht der Harnstoff durch Einwirkung des Ammoniak auf Cyansäure, so müssen die substituirtten Ammoniake einfachsubstituirtte Harnstoffe geben: Methylharnstoff resp. Aethylharnstoff



Bildet dagegen das eingeführte Ammoniak Harnstoff aus dem kohlensauren Salz unter Austritt von Wasser, so müssen sich Di-substituirtte Harnstoffe bilden, Diäthylharnstoff etc.



2) Wenn kohlensaures Ammoniak unter Wasserabgabe in Harnstoff übergeht, so ist zu erwarten, dass derselbe Vorgang auch an andern Ammoniaksalzen stattfindet, z. B. aus

essigsaurem Ammoniak Acetamid, aus äpfelsauerm Malamid gebildet werden wird etc.

3) Wenn der Uebergang von Ammoniaksalzen in Harnstoff nichts mit der Cyansäure zu thun hat, so muss eine beliebig grosse Menge Ammoniak in Harnstoff übergeführt werden können — die Grenze wäre dann allein in der toxischen Wirkung gelegen, — beruht er dagegen auf der Einwirkung des Ammoniak auf die Cyansäure, so wird die Menge des Ammoniak, welches höchstens noch in Harnstoff übergeführt werden kann, begrenzt sein durch die Menge des zerfallenden Körpereiwiss. Nehmen wir an, dass selbst aller N desselben die Form der Cyansäure annehme, so muss ein Theil des Ammoniak unverändert ausgeschieden werden, sobald der darin eingeführte N den N-Gehalt des zerfallenden Eiweiss übertrifft.

ad. 1. Die Versuche mit Methyl- und Aethylamin sind trotz vieler darauf verwendeter Zeit und Mühe nicht beweisend ausgefallen, weil leider die Alkoholgruppe im Organismus zum grössten Theil fort oxydirt wird, während andererseits ein kleiner Theil der Basen — und zwar ein etwas grösserer, wie beim Ammoniak selbst, — unverändert zur Ausscheidung gelangt.

Zum Belege diene folgender Versuch, ein Beispiel verschiedener ausgeführter. Das Kaninchen 2620 Gramm schwer, wurde mit 180 Gramm Kartoffeln gefüttert und einige Tage nach Beginn dieser Fütterung zum Versuch genommen. Am 5. 6. 7/10 76 erhielt es im Ganzen 7,202 salzsaures Methylamin, auf 2—3 Einspritzungen pro Tag vertheilt. Der Harn reagirte am 2. 3. 4. 5. alkalisch, am 6. und 7. sauer.

Versuchsreihe VI.

Datum. Periode.	N nach Seegen.	N nach Bunsen.	S-Gehalt.	S : N = 1 :	N in Form von Ammo- niaksalz.
2. 3. 4/10 76 I	5,1628	5,105	0,3881	13,2	0,0277
5. 6. 7. II	5,460	5,533	0,356	15,6	0,2856

Die zur Aufnahme des Ammoniaks dienende Säure im Schlösingschen Apparat wurde mit Na_2CO_3 nahezu neutra-

lisirt, eingedampft und der Rückstand mit Alkohol ausgezogen, der Auszug gab an den Versuchstagen mit Chloroform und Natronlauge unzweifelhafte Isonitrilreaction, (Hofmann'sche Reaction), an den Normaltagen blieb sie zweifelhaft. Das Methylamin ist also zum Theil unverändert ausgeschieden. Um festzustellen, wieviel von der Methylgruppe überhaupt zur unveränderten Ausscheidung gelangt sei, benutzte ich das Filtrat von der Bunsenschen Bestimmung. Dasselbe wurde zuerst unter Zusatz von Säure eingedampft, alsdann mit Natronlauge destillirt und das entweichende NH_3 in Salzsäure aufgefangen, mit Pt-chlor eingedampft etc., der Platinsalmiak gewogen. Aus der Bunsenschen Bestimmung der Per. I, erhielt ich so 1,1915 Pt-salmiak, für die ganze Harnmenge 71,490 Gramm. 1,076 Gramm gaben mit chromsauren Blei und vorgelegtem Kupfer verbrannt: 0,1785 H_2O und 0,0097 CO_2 . Daraus berechnet sich 1,84% H und 0,245% C, für die ganze Menge also 0,175 organischer, an NH_3 gebundener Kohlenstoff.

Aus Periode II. wurde erhalten: 0,2615 Salmiak und daraus 1,051 Platinsalmiak (= 95,4% der theoretischen Menge unter der Annahme, dass kein substituirtes Ammoniak darin enthalten sei — das Deficit deutet auf Gehalt an substituirtem Ammoniak). Für die ganze Harnmenge (600 Cc) berechnen sich 84,06 Gramm.

0,627 Gramm gab 0,1040 H_2O und 0,0095 CO_2 = 1,92% H und 0,43% C. Für die ganze Menge ergaben sich also 0,3615 Kohlenstoff. Zieht man dann den für die Normalperiode erhaltenen ab, so bleiben noch 0,1855 als auf die Aethylaminfütterung zu beziehen. Berücksichtigt man nun noch, dass ein Theil des Methylamin sicher unverändert ausgeschieden ist, so fällt der Werth zu klein aus, als dass man irgend einen Schluss mit Sicherheit darauf gründen könnte. Der bei Weitem grösste Theil des Methyl wird im Organismus oxydirt. Wenn nun auch die Aussicht auf Erfolg nicht gross war, versuchte ich doch noch die direkte Darstellung der substituirtten Harnstoffe. Zu dem Zweck wurde der, nach der Fütterung grösserer Menge substituirtten Ammoniaks ent-

leerte, Harn mit Ba Cl_2 und etwas $\text{Ba H}_2 \text{O}_2$ ausgefällt, das Filtrat mit H Cl genau neutralisirt, der alkoholische Auszug verdunstet und auf's Neue mit absolutem Alkohol aufgenommen. Es handelte sich jetzt darum, die noch vorhandenen präformirten Ammonsalze vollständig daraus zu entfernen. Diese Aufgabe erwies sich als weit schwieriger, als ich anfangs gedacht hatte. Es wurde zunächst zu dem alkoholischen Auszug eine hinreichende Quantität Platinchlorid hinzugefügt, dann das halbe Vol. Aether und nach 48 Stunden abfiltrirt (der Niederschlag gab Isonitrilreaction). Beim Abdestilliren des alkoholisch-ätherischen Filtrates entstand regelmässig eine neue krystallinische Ausscheidung trotz der höheren Temperatur und trotz der Entfernung des Aethers; es hat fast den Anschein, als ob dieser Platinsalmiak von einer Zersetzung am Harnstoff herrührt. (Die direkte Behandlung des ätherisch-alkoholischen Filtrates mit $\text{H}_2 \text{S}$ zur Entfernung von Pt wurde nach einigen Versuchen aufgegeben; es entstanden dabei jedesmal höchst unerquickliche schmierige Produkte, die den Harnstoff verunreinigten und kaum davon zu trennen waren.) Der alkoholische Auszug wurde bei gelinder Wärme vollständig verdunstet und nochmals mit Alkohol und Aether versetzt, nach 48 Stunden abfiltrirt. Zur gleichzeitigen Entfernung des Platin und der Salzsäure fand ich die direkte Behandlung mit feuchten $\text{Ag}_2 \text{O}$ oder $\text{Ag}_2 \text{CO}_3$, das ich in der Regel anwendete, sehr bequem. Wenn man eine Lösung von Platinchlorid mit Silberoxyd in hinreichender Menge schüttelt, so entfärbt sie sich vollständig, das Filtrat ist wasserklar und enthält weder Platin noch Salzsäure noch Silber. Filtrirt man den Niederschlag ab und übergiesst ihn mit Salzsäure von 1,12 sp. G., so löst sich das Platin wiederum auf, man erhält eine Lösung von Platinchlorid, welche reine Salzsäure und allenfalls Spuren von Silber enthält. Dieses eigenthümliche, bisher nicht bekannte Verhalten von Silberoxyd zu Platinlösungen, auf das ich an einem andern Ort zurückkommen werde, habe ich regelmässig verwendet. Die Reaction vollzieht sich aber in alkoholisch-ätherischen Lösungen unvollständig, das Filtrat

wurde daher unter Wasserzusatz vorsichtig verdunstet und mit Ag_2CO_3 digerirt. Das farblose Filtrat reagirt alkalisch und enthält Spuren von Silber. Die alkalische Reaction rührt vom Natron her, welches sich als Chlornatrium bis in den 2^{ten} ätherisch-alkoholischen Auszug durchgeschleppt hat, und vielleicht von Silberoxyd. Ich scheute mich, es direkt einzudampfen aus 2 Gründen: 1) war bei zunehmender Concentration die zersetzende Wirkung des Aetznatron zu fürchten. 2) Die oxydirende Wirkung des gelösten Silberoxyd. Die Flüssigkeit wurde daher mit verdünnter Schwefelsäure eben angesäuert und mit H_2S behandelt eingedampft, mit absolutem Alkohol extrahirt. Der so erhaltene Harnstoff noch ein oder einige Male aus absolutem Alkohol umkrystallisirt, erwies sich nun allerdings als vollkommen rein und auch ganz frei von Ammoniaksalzen (zur Prüfung wurde jedesmal ein Theil der Lösung mit Kalkmilch 3—4 Tage in den Schlösing'schen Apparat gebracht. Eine Abnahme der Acidität der $\frac{1}{10}$ Normalsäure war nicht zu konstatiren, ebensowenig Ammoniak darin mit Nessler'schem Reagens in merklicher Menge nachweisbar,) aber er enthielt auch nur eine geringfügige Menge an substituirtem Harnstoff. Zum Nachweiss desselben hielt ich es nicht für zweckmässig, den Harnstoff direkt zu analysiren, da die oben zu erwartenden Abweichungen in der Zusammensetzung doch innerhalb der Beobachtungsfehler fallen konnten, sondern führte denselben wiederum durch Glühen mit Natronkalk in Salmiak über. Der erhaltene Sahmiak wurde mit absolutem Alkohol extrahirt, diese Lösung mit Platinchlorid und Äther gefällt. Bei der Analyse dieses Platinsalmiak erhielt ich indessen wiederum nur ganz geringe Quantität CO_2 , so dass also auch auf diesem Wege eine Entscheidung nicht zu erzielen war. Die Möglichkeit, dass bei dem langen Wege, namentlich beim Umkrystallisiren der löslichere substituirte Harnstoff in den Mutterlaugen geblieben und so verloren gegangen sei, liess sich allerdings nicht in Abrede stellen. Ich versuchte daher schliesslich noch die vollständige Entfernung des präformirten Ammoniak durch Kalkmilch zu erreichen und sah von der Reindarstellung des Harnstoffs

vollständig ab. Der alkoholisch-ätherische mit Platinchlorid gefällte Auszug von Kaninchenharn nach Fütterung mit 6 Gramm salzsaurem Aethylamin wurde durch Alkoholzusatz auf 150 Gramm gebracht und je 15 C. in 2 Schlösing'sche Apparate gebracht. Nach 3tägigem Stehen waren im Ganzen 8 Cc $\frac{1}{10}$ Normalsäure neutralisirt. Eine weitere Ammoniakentwicklung fand nicht statt. Die Mischung von Aetzkalk und dem Filtrat wurde alsdann filtrirt, der gelöste Kalk durch CO_2 entfernt, einige Tropfen Säure hinzugesetzt, eingedampft und im Kolben mit Natronkalk erhitzt, das entweichende NH_3 in HCl aufgefangen, abgedampft. Die Menge des erhaltenen Salmiak betrug 0,843 Gramm. Derselbe wurde in 15 Gramm Wasser gelöst; die Lösung gab starke Isonitrilreaktion. 5 Cc derselben wurden auf chromsaurem Blei eingetrocknet und verbrannt. Es wurde erhalten 0,0165 CO_2 . Daraus berechnet sich für die ganze Menge 0,4267 Gramm Methylharnstoff. Die Bildung einer kleinen Menge substituirtten Harnstoffs wird danach kaum bezweifelt werden können, und ebenso wenig, dass ein einfach substituirtter Harnstoff darin enthalten war; ob aber in dem erhaltenen Gemisch von Ammonsalzen ausser Methyl oder Aethylamin auch Dimethylamin enthalten ist, das dürfte bei den kleinen Mengen, die wir stets nur erhielten, kaum zu unterscheiden sein, da wir bisher leider keine spezifische Reaction besitzen, welche die Diamine in Gemischen ebenso scharf erkennen lässt, wie die Hofmann'sche Reaction die Monamine. Ich bin noch damit beschäftigt, aus den bei Fütterung grösserer Mengen Aethylamin erhaltenen Ammoniaksalzen wenigstens alles $\text{NH}_4 \text{Cl}$ zu entfernen; vielleicht gibt alsdann die Analyse direkt Aufschluss. Immerhin ist es äusserst unwahrscheinlich, dass neben dem Monamin noch Diamin gebildet ist, dass also ein Theil des Harnstoffs auf diesem, ein anderer auf jenem Wege gebildet ist und im Ganzen sprechen die Versuche mit substituirtten Ammoniak daher mehr für die Cyansäure-Theorie, wie für die Anhydrid-Theorie.

ad. 2. Zu den Versuchen diente zunächst essigsaures und äpfelsaures Ammoniak, von welchem im Organismus nach der

Anhydridtheorie eine Umwandlung in Acetamid und Malamid zu erwarten stand. Es zeigte sich dabei zunächst, dass diese organischsauren Ammoniaksalze in grösseren Dosen vertragen werden, als Salmiak, auch unter Berücksichtigung des höheren Mol-Gewichtes, dass es also möglich ist, eine grössere Menge Ammoniak mit diesen einzuführen, wie mit Salmiak. Genauere Versuche zur Feststellung der toxischen Dosis sind allerdings noch auszuführen. 2 Gramm essigsaures Ammoniak einem grossen Kaninchen auf einmal in den Magen gespritzt, tödteten dasselbe in $\frac{3}{4}$ Stunden unter Krämpfen, Quantitäten bis zu 1 Gramm in einer Dosis wurden indessen vertragen. Der Harn behielt seine alkalische Reaction. Er enthielt, wie stets, eine sehr geringe Menge von Ammoniaksalzen; so an 2 Tagen nach Einspritzung von 2 Gramm essigsaurem Ammoniak nur 0,018 Grm. N in Form von Ammoniaksalzen. Das Ammoniak wurde also auch in diesem Fall nicht als solches ausgeschieden. — Der Nachweis des Acetamid im Harn ist kaum anders zu führen, als durch Destillation des mit Schwefelsäure angesäuerten Harns; gehen dabei ansehnliche Mengen Essigsäure in das Destillat über, so ist die Gegenwart von Acetamid wenigstens möglich. Wiederholt wurde der Harn nach Fütterung mit essigsaurem Ammoniak mit Schwefelsäure destillirt, jedoch immer nur der angewendeten Dosis gegenüber ganz kleine Mengen Essigsäure erhalten, nicht viel mehr, wie auch normaler Kaninchenharn unter diesen Verhältnissen giebt, trotzdem die Destillation mit wiederholter Erneuerung des überdestillirten Wassers so lange fortgesetzt wurde, als überhaupt noch das Destillat merklich sauer reagirte und bis auf einen geringen Rückstand im Kolben abdestillirt wurde (die Salzsäure aus dem Na Cl des Harns geht, wie auch Thudichum bemerkt⁽¹⁾, erst sehr spät über). Nach Eingeben von 1,3 Grm. essigsaurem Ammoniak an 2 Tagen neutralisirten die Destillate der Hälfte des Harns 4,1 Cc $\frac{1}{10}$ Normalsäure, also im Ganzen 8,2 Cc oder 0,82 Cc Normalsäure.

(1) Pflüg. Archiv, Bd. XV. p. 14.

während die eingeführte Essigsäure, als Salz oder Acetamid ausgeschieden, ungefähr 17 Cc erfordert hätten. Nach Eingeben von 2 Gramm an 2 Tagen brauchte die Hälfte des Harns 3,4 Cc, im Ganzen also 0,68 Cc Normallauge, während 24,7 Cc erfordert waren. Das essigsäure Ammoniak verschwindet also im Organismus nahezu vollständig, die Essigsäure wird oxydirt, das Ammoniak ohne Zweifel als Harnstoff ausgeschieden.

Das Acetamid selbst wird nach den Versuchen von Schultzen und von Nencki beim Hund unverändert ausgeschieden. Für Kaninchen gilt dies nicht in vollem Umfang, wenn auch ein Theil ausgeschieden wird. Der nach Einspritzung von 2 Grm. Acetamid in den nächsten 24 Stunden entleerte Harn wurde mit verdünnter Schwefelsäure destillirt, das Destillat neutralisirt und dann mit Silberlösung gefällt. Der, aus heissem Wasser umkrystallisirte, Niederschlag erwies sich als essigsäures Silber. 0,2775 Gramm gab 0,1785 Ag = 64,33 %, erfordert 64,66 %. Indessen wird bei Weitem nicht alle Essigsäure wieder ausgeschieden. Der nach Einspritzung von 2,8 Grm. Acetamid an 2 Tagen entleerte Harn mit Schwefelsäure destillirt, verbrauchte im Ganzen 10,4 Cc Normalnatron, während ungefähr 47 Cc erforderlich gewesen wären zur Neutralisirung der mit dem Acetamid eingeführten Essigsäure. Noch zweifelhaft ist, ob das Acetamid überhaupt als solches ausgeschieden wird und nicht als essigsäures Salz. Die Ammoniakbestimmung ergab in dem zweiten erwähnten Harn 0,00762 NH₃. Nun wird aber durch die Kalkmilch auch das Acetamid in der Kälte allmählig zersetzt. 1,5 Grm. Acetamid mit Kalkmilch in den Schlösingschen Apparat gebracht, hatten nach 48 Stunden 2,6 Cc Normalsäure neutralisirt, in einem andern Versuch sogar 3,6 Cc. Das angewendete Acetamid war frei von Ammoniaksalzen: Die alkoholische Lösung gab mit Platinchlorid, unter Zusatz von Aether stehen gelassen, in 48 Stunden keine Spur von Niederschlag. Nun hätten in den 20 zur NH₃-Bestimmung nach Schlösing verwendeten Cube, bei 220 Cc Harnmenge mindestens, 0,25 Grm. Acetamid ent-

halten sein, dieses aber nach Analogie des vorigen Versuchs mindestens 3,5 Cc $\frac{1}{10}$ Normalsäure entsprechendes Ammoniak liefern müssen, wahrscheinlich aber mehr, da erst nach 4 Tagen titirt wurde. Im Ganzen sind dagegen incl. des präformirten NH_3 nur 0,6 Cc $\frac{1}{10}$ Normalsäure verbraucht. Weiterhin ging beim Schütteln des mit Schwefelsäure angesäuerten Harns mit Aether eine ansehnliche Menge Säure in diesen über, wenn auch nicht ebensoviel, wie bei der Destillation; das Acetamid wird also nicht vollständig unverändert ausgeschieden, ein grosser Theil sicher zersetzt.

Nach Einspritzungen von neutralem äpfelsauren Ammoniak — 5,5 Grm. in 6 Tagen — wurde gleichfalls nicht mehr Ammoniak entleert, wie normal, nämlich 0,0153 NH_3 in 3 Tagen. Damit ist gleichzeitig entschieden, dass der Harn kein Malamid enthält, denn Malamid wird ebenso durch Kalkmilch zersetzt, wie Acetamid. Zum Belege diene folgender Versuch. Grosses Kaninchen mit Weizenfütterung. Harn von 3 Tagen 16. 17. 18/6 73 auf 200 Cc verdünnt, stark sauer, enthielt 0,0153 NH_3 . An zwei folgenden Tagen je 2 Gramm Malamid (gut krystallisirt und völlig rein). Harn von diesen beiden und an den nächstfolgenden Tagen (19. 20. 21/6 73) stark sauer. Die Ammoniakbestimmung misslungen, weil die in den Apparat gebrachten 2 Cc Normalsäure übersättigt sind. Ein grösserer Theil des Harns eingedampft, mit Alkohol extrahirt, der alkoholische Auszug mit Kohle entfärbt, eingedampft mit Wasser auf 20 Cc. Mit dem Soleil-Ventzkeschen Apparat zeigt die Lösung Linksdrehung entsprechend 3,5% Eiweiss. Aus den eingedampften Auszug krystallisirte beim wochenlangen Stehen Malamid in ausgezeichnet schönen Krystallen aus. Ob alles Malamid unvermindert ausgeschieden, ist freilich eine Frage, die nicht leicht zu beantworten sein wird. Ausserdem fehlt in diesem Versuch auch eine NH_3 -Bestimmung mit Platinchlorid. Der grössere Theil dieser Versuche ist schon vor langen Jahren angestellt und müsste wohl noch nach mehreren Richtungen ergänzt werden. Die bezüglichen Versuche sind bereits im Gange. — Jedenfalls steht soviel fest, dass die beiden untersuchten Ammoniak-

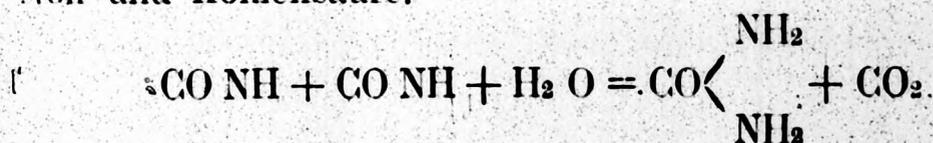
salze kein Amid im Organismus bilden, was wohl zu erwarten wäre, wenn die Theorie der Anhydridbildung richtig wäre.

ad. 3. Was endlich den 3. Punkt betrifft, so sind die Aussichten zur Realisirung dieser Versuchsanordnung nicht gerade gross. Es kommt darauf an, einem Thier erheblich mehr N in Form eines Ammoniaksalzes zuzuführen, als es in seinem Harnstoff ausscheidet. Geht auch dann das Ammoniak ebenso vollständig, wie sonst, in Harnstoff über, so ist damit die Cyansäuretheorie gestürzt und die Anhydridtheorie bewiesen. Es handelt sich also in erster Linie darum, die normale Harnstoffausscheidung für eine längere Periode möglichst herabzusetzen. Ich glaube nicht, dass man in diesem Punkt noch wesentlich weiter kommen wird, als ich schon gekommen bin. In meinen Versuchen kommen Zahlen von 0,37—0,4 N pro Tag vor, während man die normale N-Ausscheidung eines gut genährten Kaninchen von 2000 Gramm Körperg. auf etwa 1,5—2 Gramm veranschlagen kann. Es bliebe also nur eine weitere Steigerung des Ammonsalzes. Sie ist mit dem salzsauren Salz sicher nicht möglich — ich bin schon hart an die toxische Dosis, ja leider oft über diese hinausgegangen. Es ist nicht zweifelhaft, dass dabei die Alkalientziehung durch die beim Uebergang des NH_3 in einen neutralen Körper freiwerdende Salzsäure eine grosse Rolle spielt. Sie kann abgeschwächt werden durch das stark alkalische Futter, falls die Thiere dieses überhaupt nehmen, vielleicht auch durch gleichzeitige Zuführung von kohlensauren Natron, wie ich es früher schon beim Taurin versucht habe oder besser wohl von pflanzensauren Salzen. Die auffallende Immunität gegen die grossen Gaben von Acetamid, in geringerem Grade auch gegen das essigsäure und äpfelsäure Ammoniak fordern zu erneuten Versuchen mit diesen Substanzen auf, die ich bereits begonnen habe.

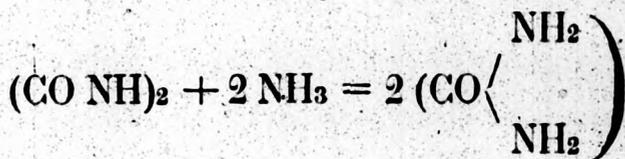
Wenn also auch die definitive Entscheidung noch aussteht, so spricht die Bildung von Methylharnstoff, sowie das

Verhalten des essigsäuren und äpfelsäuren Ammoniak entschieden gegen die Theorie der Anhydridbildung und machen die Cyansäuretheorie in hohem Grade wahrscheinlich.

Nehmen wir sie als richtig an, was folgt daraus für die normale Bildung des Harnstoffs? Etwa, dass auch der normale Harnstoff durch Zusammentreten von Cyansäure und Ammoniak entsteht? Keineswegs! Im Gegentheil. Wenn der normale Harnstoff aus Cyansäure und Ammoniak entsteht, so ist nicht abzusehen, wie die Zuführung von Ammoniak eine Vermehrung des Harnstoffs zur Folge haben sollte. Es sei denn, dass das Ammoniaksalz den Modus des Eiweisszerfalles vollständig veränderte, (derart, dass dann aller N desselben in Form von Cyansäure auftrete,) eine Annahme, die vollständig in der Luft schwebt. Auf der anderen Seite ist es nicht zu bezweifeln, dass die Cyansäure, wenn sie beim Zerfall des Eiweiss auftritt, auch in irgend einer Beziehung zur Harnstoffbildung steht. Ich stelle mir vor, dass in der Norm 2 Cyansäuregruppen in statu nascendi unter Aufnahme von H_2O auf einander einwirken unter Bildung von Harnstoff und Kohlensäure.



Eine solche Reaction ist ausserhalb des Organismus allerdings noch nicht bekannt, wohl aber ist bekannt, dass die freie Cyansäure bei Körpertemperatur nicht existenzfähig ist. Bei Gegenwart von Ammoniak, wirkt dieses auf die Cyansäure ein und es erklärt sich so die Bildung der doppelten Menge Harnstoff aus derselben Menge von Cyansäure.



Auf die Frage, ob die Cyansäure direkt aus dem Eiweiss hervorgeht oder aus Zwischenstufen und aus welchen, will ich hier nicht eingehen, und nur soviel bemerken, dass mir aus verschiedenen Gründen als Zwischenstufen bei der

Entstehung des Harnstoffs die Harnsäure und das Xanthin eine wichtigere Rolle zu spielen scheinen als die in neuerer Zeit so sehr in den Vordergrund gestellten Amidosäuren, welche ja allerdings unzweifelhaft im Organismus entstehen und in Harnstoff übergehen, aber vielleicht in einem weit bescheideneren Umfange, als man jetzt anzunehmen pflegt. Es wird die Aufgabe späterer Abhandlungen sein, diese Fragen näher zu erörtern.

Theil II. Versuche an Hunden.

Schon vor dem Erscheinen der Arbeit von Knieriem habe ich auch an Hunden Versuche mit Benzamid angestellt, von einem ganz anderen Gesichtspunkt aus, als Knieriem bei seinen Salmiakversuchen. Ich ging damals in Uebereinstimmung mit Hoppe-Seyler und Baumann von der Annahme aus, dass der Harnstoff im Organismus aus Cyansäure und Ammoniak entstehe. War diese Annahme richtig, so musste bei der Bildung von Uramidosäuren, welche die Cyansäure für sich in Beschlag nehmen, das Ammoniak als Salz im Harn erscheinen, vorausgesetzt, dass überhaupt das im Organismus abgespaltene Ammoniak im Harn erscheine. Diese Vorfrage suchte ich unter Anwendung von Benzamid am Hund zu entscheiden und gelangte ⁽¹⁾ zu dem Resultat, dass das Ammoniak allerdings im Harn auftrete, indessen war die Menge wechselnd und da die Versuche nicht volle Garantie für die Richtigkeit der Zahlen bieten, so nehme ich von einer detaillirten Mittheilung derselben Abstand (die Vorwürfe, die diesen Versuchen zu machen sind, beziehen sich auf die unzureichende Abgrenzung der Perioden und das Verfahren bei der Ammoniakbestimmung, das wegen der zu kurzen Zeit, welche dem Harn zur Abgabe des NH_3 gegönnt wurde, zu niedrige Werthe geben musste).

In allen späteren Versuchen ist für die Abgrenzung der Perioden durch Catheterisiren der weiblichen Hunde in

¹⁾ Ber. d. deutsch. ch. G. Bd. VIII. p. 116.

aufrechter Stellung, nach dem Vorgange von A. Fränkel, sowie häufig auch noch durch Ausspülen der Blase mit warmem Wasser, hinlänglich gesorgt. Ehe ich die Versuche mittheile, habe ich noch einige Worte über die Art der Fütterung zu sagen.

Ich habe nur einen der mitzutheilenden Versuche im N-Gleichgewicht angestellt, weil in diesem Zustand die Menge des ausgeschiedenen Ammoniaks und Harnstoffs zu gross ist und vom Hungerezustand wegen des Erbrechens ganz Abstand genommen. Allen andern Versuchen bis auf den einen liegt eine Versuchsanordnung zu Grunde, die allerdings nicht so elegant ist, wie die beiden vorerwähnten, nämlich eine protahirt unzureichende Ernährung. Die Hunde im Gewicht von 20—23 Kilo erhielten täglich eine Mischung von 50 Gr. condensirter Milch, 50 Gramm Speck, 150 Gramm Brod und 300 Gramm Wasser. Dieses Gemisch wird nach meinen bisherigen Erfahrungen von allen Hunden gern genommen und kann mindestens 30 Tage lang ohne Schaden die ausschliessliche Nahrung bilden. Der zu dem Versuch bestimmte Hund musste meistens nach gemischtem Fressen 2 Tage hungern, bekam dann einige Tage 150 Gramm Brod und 400—500 Gramm Milch und alsdann die genau abgewogene Mischung. Die condensirte Milch wurde zu jeder Versuchsreihe aus einigen Büchsen in grosse breithalsige Glasstöpselgläser vereinigt und gut durchgerührt. Innerhalb 10—14 Tagen pflegte der Hund auf eine N-Ausscheidung von $3\frac{1}{2}$ —3 Gramm, ja noch weniger zu kommen, die sich mit kleinen Schwankungen constant erhielt. Die Schwankungen sind kaum grösser, wie bei hungernden Thieren. Ein grosser Vortheil der Methode liegt darin, dass dieses Nahrungsgemisch die beizubringenden fremdartigen Substanzen vortrefflich verdeckt, so dass die Thiere das Gemisch in den seltensten Fällen refüsiren. Soviel ich mich erinnern kann, ist dieses nur bei der Amidobenzoösäure geschehen und auch bei dieser erst dann, als der Hund durch die Fütterung an zwei aufeinanderfolgenden Tagen davon belehrt war, dass das Futter Erbrechen erzeuge. Ein Nachtheil der Methode besteht in der häufigen + täglichen —

Kothentleerung und der voluminösen Beschaffenheit derselben. Es verdient vielleicht noch der Erwähnung, dass der Hund bei dieser Ernährung jede unnöthige Muskelanstrengung scheute — doch musste er bis zum Ende der Versuche täglich mehrmals in seinem über 1 Meter hohen Käfig springen und that dieses auch mit Leichtigkeit, — sowie dass er, mehr noch, wie sonst die Hunde im Allgemeinen, möglichst warme Stellen aufsuchte; ich glaube in der That, dass der dem Hunde ermöglichte Aufenthalt bei hoher Aussentemperatur wesentlich zur Erhaltung desselben beigetragen hat. Die bei dieser Fütterung ausgeschiedenen N-Mengen im Harn sind so gering, dass sie selbst durch die des vollständigen Hungerzustandes nicht übertroffen wird, wie nachfolgende Tabelle zeigt. Der erste Tag derselben ist der 18. Tag der Fütterung mit der Mischung; die Reihe gehört zu einem Fütterungsversuch mit Harnsäure.

Versuchsreihe VII.

Datum.	Körpergewicht in Kilogr.	Harnmenge.	Spec. Gew. nach Verdünnen auf 400 Cc.	N nach Seegen.	N nach Bunsen.	
27 ^a 76	22.73	230	1015	3.04	nicht best.	
28.	22.68	200	1013.5	2.74	2.67	
29.	22.66	260	1012.5	2.86	nicht best.	
30.	22.32	220	1011	2.616	2.620	} Hunger
31.	22.05	135	?	2.980	2.948	

Im Uebrigen kann ich bezüglich der Methode auf das früher Gesagte verweisen.

Der eine der beiden oben bereits erwähnten Benzamidversuche war in der Absicht angestellt, die Harnstoffzunahmen, entsprechend den Angaben von Knieriem für den Salmiak zu verificiren. Als Maassstab für den Eiweisszerfall diente die Schwefelsäureausscheidung. Trotzdem er kein positives Resultat hatte, halte ich seine Mittheilung doch für gerechtfertigt. Der Versuch schloss sich unmittelbar an einen Versuch mit Amidobenzoësäure an, eine Anordnung, die ich später aufgegeben habe; dieses erklärt die niedrige N und

SO₄H₂ Ausscheidung. (Auf den letzteren Punkt, das auffällige Sinken der Schwefelsäureausscheidung [in einem Versuch bis auf wenige Centigramm] nach der Einführung von Amidobenzoësäure komme ich bei Besprechung dieser Säure zurück.)

Versuchsreihe VIII.

Datum	Harnmenge	N nach Bunsen.	Schwefelsäure ausgedr. in Ba SO ₄	Bemerkungen.
28. 75	150	2,766	0,656	
29.	170	3,112	1,172	
30.	225	4,502	1,920	Auf 30sten 5 Grammi Benzamid.
1.	375	5,793	1,308	31sten 8
2.	220	4,408	0,792	
3.	175	3,366	0,640	
4.	160	2,881	0,700	

In der That hat also nach der Benzamidfütterung die Harnstoffausscheidung zugenommen, allein die Steigerung der Schwefelsäure zeigt sofort die Quelle dieser Zunahme, die vermehrte Eiweisszersetzung. Der Harn enthält reichlich Benzoësäure, wenig Hippursäure. Dieses Resultat veranlasste mich zu einem Versuch mit Benzoësäure.

Versuchsreihe IX.

Datum	Körpergew. Kilo.	Harnmenge	Specif. Gewicht.	N nach Bunsen.	O ₂ H ₂ als BaSO ₄	Bemerkungen.
16. 75	19,62	400	1014,5	3,377	0,866	
17.	—	—	1014,5	3,480	0,880	
18.	19,15	—	1013,5	3,208	0,842	
19.	—	400	1028,5	4,865	1,332	5,122 Benzoësäure als
20.	19,620	400	1035,0	5,648	1,344	7,323 Na-Salz
21.	19,550	400	1014,5	3,976	0,736	
22.	19,470	400	1014,0	3,132	0,884	
23.	19,250	400	1015,0	3,440	0,840	
24.	19,030	400	1015,0	3,568	0,850	
25.	19,050	425	1037,0	5,372	1,512	7,588 Benzoësäure
26.	19,000	400	1038,5	5,652	1,206	7,527 als Na-Salz.
27.	18,830	400	1015,0	4,024	0,524	
28.	18,730	440	?	3,328		

Auch die Benzoësäure, als Natronsalz, bewirkt somit einen vermehrten Zerfall von Körpereiwiss und Versuche mit Benzamid können daher für die vorliegende Frage nichts beweisen, wenn nicht mit Bestimmtheit der Nachweis geführt werden kann, dass die Harnstoffsteigerung grösser ist, als dem Eiweissumsatz entspricht.

Es wurden daher zunächst Versuche mit Ammonsalzen angestellt. In der folgenden Versuchsreihe (X.) handelt es sich um denselben Hund, der zu Versuch IX. gedient hatte; sein Körpergewicht war in der Zwischenzeit auf fast 23 Kilo gestiegen. Bezüglich der angewendeten Methode zur Schwefelsäurebestimmung ist zu bemerken, dass eine irgend merkliche Dunkelfärbung des Harns, der mit einigen Tropfen Salzsäure angesäuert auf dem Wasserbad erwärmt und dann mit BaCl_2 versetzt wurde, nicht eintrat, diese angeführten Zahlen also nur die präformirte Schwefelsäure ausdrücken, nicht die gebundene Baumann's. Die Umrechnung des BaSO_4 auf $\text{SO}_4 \text{H}_2$ ist unterlassen, da es sich ja doch nur um Verhältnisszahlen handelt.

Versuchsreihe X.

Datum	Mit der Nahrung zugeführt.	Harn- menge	Ver- dünt auf	Specif. Gewicht nach Verdünnung.	N nach Bun- sen.	N nach Liebig.	BaSO_4
17,75	0	320	400	1015,5	+	3,99	0,828
18.	0	260	400	1015,5	—	4,405	0,894
19.	0	260	400	1015,5	—	4,185	0,900
20.	0	280	400	1016,0	—	3,901	0,892
21.	0	350	400	1015,5	—	4,031	0,848
22.	7,0 Nats nitric 72 Wasser	440	440	1028,5	4,019	+	0,8602
23.	10 gr. + 207 H_2O	595	600	1023,5	3,983	—	0,738
24.	0	174	400	1013,5	3,673	—	0,608
25.	0	200	400	1013,5	3,648	—	0,802
26.	0	305	400	1014,5	3,609	—	0,756
27.	7,613 AH_4Cl	370	400	1025,0	4,906	—	0,608
28.	9,348 AH_4Cl + 100 H_2O	535	600	1018,5	5,044	—	1,064
29.	0	265	400	1012,5	2,553	—	0,584!
30.	0	230	400	1012,0	2,752	—	0,636

Unzweifelhaft zeigt dieser Versuch eine Steigerung der Harnstoffausscheidung in Folge der Salmiakzufuhr, die nicht auf die vermehrte Diurese zurückgeführt werden kann, da sie bei Natronsalpeter trotz vermehrter Diurese nicht bemerkbar ist. Zur Beurtheilung der Frage, ob die vermehrte Ur-Ausscheidung auf Erhöhung des Eiweisszerfalls beruht, scheint mir das vorwurfsfreieste Verfahren, sämmtliche Tage ohne Salmiak und die Salmiaktage einander gegenüber zu stellen. An 12 Normaltagen sind ausgeschieden 44,749 N und 8,846 Ba SO₄ = 1,215 S. Verhältniss des S der Schwefelsäure zu N = 1 : 36,9. An den beiden Versuchstagen sind ausgeschieden 9,95 N und 1,744 Ba SO₄ = 0,2395 S. Verhältniss des S der Schwefelsäure zu N = 1 : 41,5. Diese Rechnung würde allerdings dafür sprechen, dass ein Theil des N des Salmiaks in Harnstoff übergegangen ist. In meiner vorläufigen Mittheilung (1) sagte ich, dass ein kleiner Theil der Harnstoffzunahme auf Steigerung des Eiweisszerfalles zu beziehen sei. Dieser Aeusserung lag eine etwas andere Berechnung zu Grunde. Ich hielt es nämlich für richtig, noch die Schwefelsäureausscheidung vom 29. mit zu den Versuchstagen zu zählen und zwar deshalb, weil sich auch am 24. nach Einführung des Natr. nitric eine Verminderung der Schwefelsäureausscheidung gezeigt hatte. Indessen muss ich doch zugeben, dass man über die Berechtigung dieser Anschauung streiten kann und dass sie nicht sicher genug ist, um darauf das Faktum des Ueberganges von N in Harnstoff zu begründen. An den letzten Tagen der Versuchsreihe ist auch die NH₃-Ausscheidung bestimmt. N in Form von NH₄-salz ist ausgeschieden:

den 25.	0,2016	} Mittel 0,2128 Gramm.
» 26.	0,2240	
» 27.	0,8064	
» 28.	1,1424	
» 29.	0,5272	
» 30.	0,3136	

Summe 2,7896 N.

(1) Centralblatt f. d. med. W. 1875. Nr. 53.

Zieht man die Ausscheidung von 4 Tagen ab, so bleiben 1,9384 Gramm N. Mit 16,961 Gramm NH_4Cl sind eingeführt 4,443 Gramm N, es ergibt sich auf diesem Wege also allerdings ein sehr erheblicher Deficit, allein abgesehen davon, dass die völlige Resorption des eingeführten Salmiak nicht bewiesen ist (der Salmiak war in dem dem Futter zugegebenen Wasser gelöst; dasselbe wurde vollständig aufgefressen, Erbrechen trat nicht ein und auch die Kothentleerungen behielten ihre gewöhnliche Beschaffenheit) wäre es noch denkbar, dass die in 25 Cc Harn enthaltene Quantität NH_3 zu gross war, um in 3×24 Stunden durch Kalkmilch vollständig ausgetrieben zu werden.

Versuchsreihe XI.

Datum.	Körpergewicht in Kilo.	Mit der Nahrung zugeführt.	Harnmenge.	Harn verdünnt auf	Spec. Gewicht.	N nach Bunsen.	BaSO ₄
26/1075	—	0	350	400	1015,5	3,038	—
27.	—	0	370	400	1015	3,079	1,168
28.	20,20	0	280	400	1014	2,665	0,836
29.	—	0	270	400	1013	2,728	0,808
30.	—	10,043 NH_4NO_3	570 (etwas Verlust)	600	1021	4,552	0,873
31.	19,65	10,253 do.	525	600	1021	4,261	1,038
1/11	19,58	9,698 do.	455	500	1023	3,748	0,9375
2.	19,35	0	220	400	1010 (!)	2,164!	0,760
3.	19,41	0	300	400	1010	2,252	0,786
4.	19,50	0	195	400	1009!	2,187	0,686
5.	19,56	0	165	400	1009	2,378	0,682
6.	19,63	0	190	400	1009	2,373	0,660
7.	19,75	10,0 NaNO_3 + 48 H_2O NH_4NO_3	695!	700	1015,5	2,790	0,770
8.	19,62	7,963 NH_4NO_3	515	600	1017,5	3,907	0,660
9.	19,47	8,918 do	415	500	1021	3,107	0,675
10.	19,30	0	205	400	1009	1,768!	0,610

Auch diese Versuchsreihe, die ich am 10. abbrach, um das Versuchsthier nicht zu gefährden, zeigt unzweifelhaft, dass der Eiweisszerfall durch Salmiakzufuhr gesteigert wird. zweifelhaft erscheint aber ohne genauere Berechnung, ob diese Steigerung ausreicht, um die ganze Harnstoffsteigerung

zu erklären. An 10 Normaltagen (der Tag mit Natr nitric ist mit zu diesen gerechnet) sind im Ganzen ausgeschieden 24,384 N und $7,766 \text{ Ba SO}_4 = 1,063 \text{ S}$ in Form von Schwefelsäure. Das Verhältniss dieses S zu N ist $= 1 : 22,8$. An fünf Fütterungstagen sind ausgeschieden 19,57 N und $4,3185 \text{ Ba SO}_4 = 0,5931 \text{ S}$. Verhältniss von S : N $= 1 : 33$. Die Aenderung des Verhältnisses zwischen S und N deutet darauf hin, dass ein Theil des N des salpetersauren Ammoniak in Form von Harnstoff ausgeschieden ist. Berechnet man aus der S-Ausscheidung der Ammoniakstage die zugehörige N-Menge durch Multiplication mit 22,8, so ergibt sich 13,523 N. Ausgeschieden sind aber an diesen Tagen 19,570 Gramm, also 6,047 Gramm ohne die zugehörige $\text{SO}_4 \text{ H}_2$ -Ausscheidung. Eingeführt sind im Ganzen 46,875 $\text{NH}_4 \text{ NO}_3$ — ohne Erbrechen und ohne dünnflüssige Entleerungen — mit 8,202 N in Form von Ammoniak. Nach dieser Rechnung wäre $\frac{2}{3}$ des Ammoniak als Harnstoff ausgeschieden. Doch lassen sich immerhin noch Einwände gegen diese Rechnung erheben. Dass die Schwefelsäureausscheidung unter allen Umständen parallel mit der N-Ausscheidung ansteigt, ist nicht stricte bewiesen. Ja, es zeigt sich sogar in diesem Versuch an den Normaltagen das Verhältniss zwischen der $\text{SO}_4 \text{ H}_2$ -Ausscheidung und dem N ganz wesentlich anders, wie in Untersuchungsreihe X und es scheint in der That, als ob bei höherer Harnstoffausscheidung relativ weniger $\text{SO}_4 \text{ H}_2$ ausgeschieden wird. Dass der Versuch im Ganzen für den theilweisen Uebergang von Ammoniak in Harnstoff spricht, wird kaum bestritten werden können. Es sind noch einige Punkte in dieser Versuchsreihe bemerkenswerth: 1) Die Steigerung der Diurese hat nur einen minimalen Einfluss auf die Harnstoffausscheidung. Trotz einer $3\frac{1}{2}$ mal so grossen Harnstoffausscheidung ist am 7. nur 0,417 N mehr ausgeschieden. 2) Die Harnstoffausscheidung sinkt an den Tagen nach der Zufuhr des Ammoniaksalzes ebenso, wie im vorigen Versuche, erheblich unter die Ausscheidung der vorangehenden Tage, am 10^{ten} bis zu der für einen Hund von 20 Kilo ganz ungewöhnlich

geringen Menge von 1,768 N! 3) Eine auffällige Erscheinung ist die geringe Steigerung der \ddot{U} -Ausscheidung am 9^{ten}. Vielleicht ist ein durch die starke Salzfütterung doch allmählig herbeigeführter Katarrh des Darmkanals der Resorption hinderlich gewesen.

Der Umstand, dass die Schwefelsäureausscheidung keinen ganz sicheren Rückschluss auf die Eiweisszersetzung gestattet, war für mich die Veranlassung noch einen Versuch anzustellen, bei dem die Gesamt-S-Ausscheidung im Harn bestimmt wurde.

Versuchsreihe XII.

Datum.	Mit der Nahrung aufgenommen.	Harnmenge.	Harn verdünnt auf	Spec. Gew. nach d. Verdünnung.	N nach Seegen	N nach Bunsen.	S im Harn.	S: N aus \ddot{U} im Harn.
18. 76	0	160	400	1015	3,427	—	0,1824	18,6
19.	0	240	400	1016	3,371	—	p. d.	
20.	0	340	400	1014,5	2,996	—	0,1511	19,2
21.	0	320	400	1014,5	3,058	2,814	p. d.	
22.	8,0 NH ₄ Cl	405	500	1021	5,720	4,807	0,2197	20,9
23.	8,0 NH ₄ Cl	390	500	1019,5	5,705	4,374	p. d.	
24.	200 H ₂ O + 8,0 NH ₄ Cl	790	800	?	6,496	4,666	0,2351	19,8
25.	0	265	400	1011	2,990	1,884	0,1373	14,1
26.	0	260	400	1011,5	2,710	1,987	p. d.	
27.	20,0 Gr. Na ₂ HPO ₄	545	600	1020	2,898	—	0,1924	15,0

Ausser den in dieser Tabelle vereinigten Analysen sind noch einige andere Bestimmungen in dieser Versuchsreihe ausgeführt:

1) Directe Bestimmung des Harnstoffs durch Fällung mit Salpetersäure in der bei den Kaninchenversuchen beschriebenen Weise. Es wurden so erhalten:

den 18. 4,40 Gramm \ddot{U} .

» 19. 4,08 » »

» 20. 3,88 „ »

» 21. 7,00 » »

» 22. 7,28 „ »

2) Die Abnahme der Alkaleszenz bei den Bunsen'schen Bestimmungen. Dieselbe betrug für die stets angewendeten $7\frac{1}{2}$ Cc Harn

am 21. 2,7 Cc $\frac{1}{10}$ Normal-Lauge.

» 22. 2,9 » » »

» 23. 3,4 » » »

Diese Bestimmungen dienen zur Bestätigung, dass der durch das Bunsen'sche Reagens zersetzte Körper Harnstoff ist.

Auch in diesem Versuch finden wir wiederum eine unzweifelhafte Zunahme des Harnstoffes als Folge der Salmiakfütterung, aber auch eine ebenso unzweifelhafte Steigerung des Gesamtstoffwechsel und es erhebt sich wiederum die Frage, ob sich trotz oder neben dieser noch die Harnstoffbildung aus dem Salmiak nachweisen lässt.

Zunächst bemerken wir, dass mit Beginn der Salmiakfütterung die Zahlen für die Seegen'sche Bestimmung die Bunsen'schen Zahlen erheblich übertreffen, während dieselben sonst fast genau übereinstimmen und bald die eine bald die andere etwas grösser ausfällt. Daraus geht unzweifelhaft hervor, dass ein erheblicher Theil des Salmiak als solcher ausgeschieden ist. Die Summe der Zahlen für die N-Ausscheidung nach Seegen beträgt 23,625 Gramm, für N nach Bunsen 17,718 Gramm. Differenz 5,907. Mit dem Salmiak eingeführt sind 6,09 Gramm. Diese N-Menge ist also fast völlig gedeckt. Nun kann allerdings die Bunsen'sche Bestimmung normaler Weise etwas niedriger ausfallen, wie die directe N-Bestimmung.

Die Gesamt-N-Ausscheidung, z. Th. nach Bunsen, an allen Tagen ohne Salmiak betrug 19,377, die Gesamt-S-Ausscheidung 1,134. Verhältniss von S:N = 1:17,1.

Die N-Ausscheidung nach Bunsen an den Salmiaktagen betrug 13,847 Gramm, die S-Ausscheidung 0,6745. Verhältniss von S:N = 1:20,5. Berechnet man aus der S-Ausscheidung an den Fütterungstagen durch Multiplication mit 17,1 die darauf entfallende N-Menge, so ergibt sich 11,534 N. Es sind also mehr, und ohne entsprechende

S-Ausscheidung, ausgeschieden 2,313 Gramm. Dieses Resultat steht einigermassen in Widerspruch mit dem vorher aus dem Vergleich der Seegen'schen und Bunsen'schen abgeleiteten. Es sind auch in der That die Unterlagen für diese Berechnung des N aus der relativen S-Ausscheidung nicht unanfechtbar, namentlich bleibt es zweifelhaft, ob zu der Salmiakperiode nicht auch der 25. und 26. hinzugerechnet werden müssen. In diesem Falle stellt sich die Rechnung weit ungünstiger für den Uebergang von NH_3 in Harnstoff. Es beträgt dann nämlich die Ausscheidung der Normaltage: 15,506 N und 0,8594 S. $\text{S} : \text{N} = 1 : 18,08$.

An den Salmiaktagen: 17,718 N und 0,9491 S. $\text{S} : \text{N} = 1 : 18,7$.

Berechnet man wiederum aus 0,9491 S durch Multiplication mit 18,08 die zugehörige N-Ausscheidung, so erhält man 17,160 Gramm, eine Zahl, die der wirklich beobachteten — 17,718 — so nahe kommt, dass man Schlüsse aus der geringen Abweichung kaum noch ziehen kann.

Ich habe endlich noch einen Versuch mit $\text{NH}_4 \text{Cl}$ gemacht, zu dem ich durch die vorläufige Mittheilung von Voit veranlasst wurde. Voit berichtete in der bayr. Acad. der Wissenschaften, ⁽¹⁾ dass in seinem Laboratorium Versuche mit Salmiakfütterung bei Hunden angestellt seien. Der erste Versuch kommt für uns weniger in Betracht, da durch diesen nur das Auftreten von Ammoniak in ansehnlichen Mengen im Harn nach der Fütterung festgestellt ist, diese Thatsache auch als unzweifelhaft betrachtet werden kann. In dem zweiten Versuche sind nach Massgabe der Chlorausscheidung 2,7 Gramm NH_3 im Harn zu erwarten, gefunden ist von Feder 2,4 Gramm, also in der That eine nahe Uebereinstimmung. Dabei schien mir jedoch ein Punkt nicht genügend berücksichtigt. Der Versuch ist an einem hungernden Hunde angestellt, dessen Harnstoffausscheidung durch die Salmiakzufuhr auf das doppelte gesteigert wurde. Auf eine bestimmte Menge im Körper zersetzten Eiweiss kommt beim Hund eine

⁽¹⁾ Sitzungsber. Mathem.-physik. Kl. p. 132.

bestimmte Menge Harnstoff und eine bestimmte Menge Ammoniaksalz im Harn. Steigt die Eiweisszersetzung, so steigt auch die Menge des ausgeschiedenen Ammoniak. Nach dem Wortlaut der Sitzungsberichte scheint dieser Punkt nicht berücksichtigt zu sein, vielmehr von der erhaltenen Gesamtmenge NH_4 -Salz nur die normale Ausscheidung abgezogen zu sein. Dies ist der Einwand, den der Versuch von Feder noch zulässt. Ich habe diesen Salmiakversuch im N-Gleichgewicht angestellt, indem ich voraussetzte, dass bei einem gut genährten Thiere der, den Stoffwechsel steigernde Einfluss des Salmiak weniger oder gar nicht zur Geltung kommen werde. Diese Voraussetzung hat sich in der That bestätigt. Der Hund war mit 400 Gramm Fleisch und 50 Gramm Speck im N-Gleichgewicht. Er erhielt am 14^s 77 7,9215 Gramm $\text{NH}_4 \text{Cl}$, am 15. 8,1985 und vertrug diese Quantitäten sehr gut. Erbrechen oder Diarrhoe trat nicht ein. Der Hund hatte auffälligerweise täglich Kotheentleerung, ebenso auch an den Salmiaktagen, von der Beschaffenheit des Fleischkoths.

Versuchsreihe XIII.

Datum.	Harn- menge.	Harn verdünnt auf	Spec. Gewicht.	N nach Seegen	N als NH_4 - Salz.	Chlor als Na Cl. berechnet.
10 ^s 77	340	400	1041	14,863	0,7784	3,248
11.	325	400	1040	—	0,7952	3,260
12.	320	400	1040	13,888	0,7112	2,56
13.	330	400	1038	13,485	0,7672	2,360
14.	520	600	1031	14,650	1,7724	9,75
15.	480	500	1038,5	16,438	2,093	11,65
16.	250	400	1035	13,351	1,1144	4,76
17.	280	400	1035	13,36	0,812	2,48
18.	250	400	1035	13,798	0,622	2,36
19.	350	400	1040	p. d.	0,767	2,92
20.	350	400	1039	13,688	0,7504	2,68

Die Na Cl-Ausscheidung beträgt an allen Tagen mit Ausnahme des 14., 15. und 16. 19,508 Gramm, also p. d. 2,785 Gramm und für 3 Tage 8,355 Gramm. Am 14., 15.

und 16. sind ausgeschieden 26,160 Gramm. Davon kommen auf Rechnung des Salmiak 17,645, während sich für den eingegebenen Salmiak 17,626 Gramm berechnen. Die NH_3 -Ausscheidung, beträgt auf N berechnet, am 14., 15., 16 und 17. 5,792 Gramm; im Mittel berechnen sich für 4 Normaltage 2,966 Gramm, es kämen also auf Rechnung des eingeführten Ammonsalzes 2,826 Gramm; eingeführt sind 4,237. Während die Chlorausscheidung also übereinstimmt, zeigt sich in der NH_3 -Ausscheidung doch wiederum eine nicht unbedeutende Differenz. Dass die Methode der NH_3 -Bestimmung keine irgend erheblichen Fehler in sich birgt, zeigt wohl zur Genüge die grosse Uebereinstimmung der Zahlen an den Normaltagen. Die Titrirung wurde nach 4–5tägigen Stehen mit Kalkmilch vorgenommen. Es wären nun noch 3 Möglichkeiten in Betracht zu ziehen: 1) dass ein Theil des Ammoniak auf der Darmoberfläche ausgeschieden ist, 2) dass der N des NH_3 in die Expirationsluft übergegangen, 3) dass der Salmiak nicht vollständig resorbirt ist. Die anscheinende Uebereinstimmung im Chlorgehalt würde nicht unbedingt gegen diese Annahme sprechen, da wir nicht bestimmt wissen, ob bei einer Steigerung der Diuresis, namentlich wenn sie durch Zufuhr eines Salzes bewirkt ist, die Chloride des Harns nicht auch in vermehrter Menge ausgeschieden werden. Eine Entscheidung hierüber wäre nur durch Untersuchung des Gaswechsels herbeizuführen.

Alles in Allem genommen lassen die Resultate sich also zwar mit der Annahme vereinigen, dass ein Bruchtheil des Salmiak auch bei Hunden in Harnstoff übergeht, beweisen dieselben aber nicht. Das Verhältniss ist vielleicht dasselbe, wie bei der Alkalientziehung und der Bildung von Uramidosäuren. Auch bei Hunden findet eine geringe Vermehrung der Alkaliensalze im Harn nach Einführung von Säure statt, auch bei Hunden bildet sich eine kleine Menge Uramidoisäthionsäure aus Taurin; beide Thatsachen würden sich aber, wenn dieselben Vorgänge nicht bei anderen Thierklassen, in grösserem Umfange stattfänden, nur schwierig mit hinreichender Sicherheit nachweisen lassen, sie erhalten eine wesentliche Stütze

in den Analogien mit demselben Vorgang beim Kaninchen resp. beim Menschen. Es scheint demnach, als ob gerade die Fleischfresser am wenigsten geeignet seien zu Versuchen, die über den Ablauf der chemischen Prozesse Aufschluss geben sollen, so grosse Dienste sie auch in den eigentlichen Stoffwechselversuchen geleistet haben.

Anhang: Analytische Beläge.

Versuchsreihe I.

Periode.	Datum.	Harnmenge nach Wasserzusatz.	Spec. Gewicht nach Zusatz von H Cl.	N-Bestimmung nach Seegen. 5 Cc sättigen $\frac{1}{10}$ Normalsäure Cc.	N-Bestimmung nach Bunsen. Ba SO ₄ aus 7,5 Cc.	S-Bestimmung in 50 Cc. Ba SO ₄ .	NH ₃ -Bestimmung 20 Cc neutralisieren $\frac{1}{10}$ Normal-säure.
I	19. 20. 21.	500	1013,5	9,8	—	0,8000	—
II	22. 23. 24.	450	1012,5	10,5	0,179	0,078	2,2
III	25. — 28.	440	1017	25,1	0,4205	0,1265	7,5
IV	29. 30. 1. 2.	400	1011	13,1	0,2455	0,1135	2,8
V	3. — 6.	400	1015	29,5	0,508	9,1970	3,6
VI	7. — 10.	400	1018	37,9	0,6765	0,2320	6,0
VII	11. — 14.	400	1012	21,4	0,3670	0,1695	3,8
VIII	15. — 17.	315	1019 ?	35,6	0,595	0,2100	6,8

Versuch II.

Perioden.	Harnmenge.	N nach Seegen in 5 Cc. $\frac{1}{10}$ Normalsäure gesättigt.	N nach Bunsen in 7 $\frac{1}{2}$ Cc. Ba SO ₄ .	S in 50 Cc. Ba SO ₄ .	NH ₃ in 20 Cc $\frac{1}{10}$ Säure gesättigt.
I. 22. — 25 $\frac{1}{6}$ 76	400	20,0	0,326	0,1593	—
II. 26. — 29.	500	35,4	0,610	0,2120	3,1 Cc
III. 30. — 3 $\frac{1}{7}$	400	—	0,693	0,292	—
IV. 4. — 7 $\frac{1}{7}$	400	26,8	0,4375	0,2328	—

Versuch III.

I. 10. — 13 $\frac{1}{1}$ 77	400	14,55	—	0,076	—
II. 14. — 17 $\frac{1}{7}$	400	13,9	0,264	0,0745	1,0
III. 18. — 20 $\frac{1}{1}$	400	21,95	0,387	0,0850	2,8
IV. 21. — 24 $\frac{1}{1}$	400	12,70	0,248	0,0845	1,5
V. 25. — 28 $\frac{1}{1}$	400	12,70	0,235	0,0680	1,0
VI. 29. — 1 $\frac{1}{1}$	520	19,2	0,361	0,0895	1,70

Versuch IV.

Perioden.	Harn- menge	N nach Seegen in 5 Cc. $\frac{1}{10}$ Nor- malsäure gesättigt.	Bunsen in $7\frac{1}{2}$ Cc. Ba SO ₄	S in 50 Cc. Ba SO ₄ .	NH ₃ in 25 Cc $\frac{1}{10}$ Säure gesättigt.
2. 21. 22. 76	350	46,4	0,8525	0,3215	1,3
23. 24. 25.	350	39,4	0,681	0,3045	2,8

Versuch V.

21. 22. 23. 24 $\frac{1}{2}$ 77	400	15,95	0,320	0,159	
25. 26. 27. 28.	400	15,7	0,262	0,1315	
1. 2. 3 $\frac{1}{2}$ 77	300	nicht bestimmt.	0,204	0,1026	
4. 5. 6 $\frac{1}{2}$	300	27,5	nicht bestimmt.	0,2145	

Versuch VI.

2. 3. 4 $\frac{1}{10}$	450	40,9	0,708	0,314	1,1 Cc
5. 6. 7.	600 (etwas Verlust.)	32,5	0,5785	0,218	8,5 Cc

Versuchsreihe VII.

Datum.	Reducirte Harn- menge.	N nach Bunsen in $7\frac{1}{2}$ Cc		N nach Seegen in 5Cc erfordert $\frac{1}{10}$ Säure.	BaSO ₄ in 100 Cc
		a) BaCO ₃	b) BaSO ₄		
27 $\frac{1}{2}$ 76	400	nicht bestimmt		15,20	
28.	400	0,213	0,164	13,70	
29.	400	nicht bestimmt		14,30	
30.	400	0,308	0,0445	13,08	
31.	400	0,328	0,0720	14,9	

Versuchsreihe VIII.

28 $\frac{1}{6}$ 75	400	0,173	0,227	—	0,164
29.	400	0,229	0,252	—	0,268
30.	400	0,226	0,436	—	0,3225
1 $\frac{1}{2}$	400	0,236	0,601	—	0,327
2.	400	0,4465	0,165	—	0,198
3.	400	—	0,526	—	0,160
4.	400	0,172	0,247	—	0,175

Versuchsreihe IX.

Datum	Harnmenge.	N nach Bunsen in 7½ Cc		Ba SO ₄ in 100 Cc
		a) Ba CO ₃	b) Ba SO ₄	
16. 75	400	—	—	0,2165
17.	400	—	—	0,220
18.	400	0,293	0,154	0,2105
19.	400	0,387	0,301	0,334
20.	400	0,528	0,2565	0,336
21.	400	0,443	0,097	0,184
22.	400	0,258	0,1835	0,221
23.	400	verunglückt.		0,210
24.	400	0,281	0,220	0,2125
25.	425	0,263	0,478	0,356
26.	400	0,297	0,531	0,3015
27.	400	0,3945	0,1615	0,131
28.	400			

Am 16. und 17. ist der \ddot{U} r nach Liebig bestimmt, am 23. die Bunsen'sche Bestimmung misslungen, statt dessen die Seegen'sche an dem schon etwas alkalisch gewordenen und angesäuerten Harn ausgeführt an 5 Cc. Das gebildete $NH_4 Cl$ abgedampft und mit Silberlösung titirt, von der 1 Cc = 0,0025 N; verbraucht 17,2 Cc. Ebenso ist am 28. nur die Seegen'sche Bestimmung ausgeführt; verbraucht 16,34 Cc.

Versuchsreihe X.

Datum.	Reducir. Harn- volumen.	N nach Liebig Gc auf 10 Gc Harn.	N nach Bunsen in 7 1/2 Gc		SO ₄ H ₂ in 100 Gc als Ba SO ₄
			a) Ba CO ₃	b) Ba SO ₄	
17. 75	400	21,4	—	—	0,207
18.	400	23,8	—	—	0,2235
19.	400	22,6	—	—	0,225
20.	400	20,9	—	—	0,223
21.	400	21,6	—	—	0,212
22.	440	—	0,394	0,104	0,198
23.	600	—	0,274	0,090	0,123
24.	400	—	0,338	0,173	0,152
25.	400	—	0,400	0,0965	0,2005
26.	400	—	0,3865	0,1037	0,189
27.	400	—	0,444	0,240	0,170
28.	600	—	0,321	0,145	0,174
29.	400	—	0,204	0,157	0,146
30.	400	—	0,220	0,169	0,159

Versuchsreihe XI.

Datum.	Reducirte Harn- volumen.	N nach Bunsen in 7,5 Gc.		SO ₄ H ₂ -Bestim- mung Ba SO ₄ in 100 Gc.
		Ba CO ₃ .	Ba SO ₄ .	
26. 75	400	0,2195	0,2145	—
27.	400	0,2785	0,151	0,292
28.	400	0,242	0,130	0,209
29.	400	0,326	0,040	0,202
30.	600	0,2355	0,195	0,1455
31.	600	0,365	0,0115	0,173
1. 11	500	0,314	0,0965	0,1875
2.	400	0,2665	0,0225	0,190
3.	400	0,2845	0,0140	0,1965
4.	400	0,2805	0,0095	0,1715
5.	400	0,2290	0,0795	0,1705
6.	400	0,2675	0,0570	0,1665
7.	700	0,2015	0,0105	0,110
8.	600	0,244	0,120	0,110
9.	500	0,2425	0,101	0,135
10.	400	0,135	0,125	0,153

Versuchsreihe XII.

Datum.	Reducirtes Harn- volumen.	N-Bestimmung nach Seegen 5 Cc Harnsättig. $\frac{1}{10}$ Normalsäure in Cc	N nach Bunsen in 7,5 Cc Ba SO ₄	Gesamt-S- Bestimmung 100 Cc geben Ba SO ₄
18. 76	400	30,6	—	} 0,332
19.	400	30,1	—	
20.	400	26,25	—	} 0,275
21.	400	27,3	0,439	
22.	500	39,8	0,600	} 0,320
23.	500	40,75	0,546	
24.	800	29,0	0,364	0,214
25.	400	26,7	0,294	} 0,250
26.	400	22,4	0,326	
27.	600	17,25	—	0,2335

Versuchsreihe XIII.

Datum.	N nach Seegen 1,25 Cc Harn binden $\frac{1}{10}$ Säure.	NH ₃ -Bestimmung 10 Cc Harn binden $\frac{1}{10}$ Säure.	Cl-Bestimmung 10Cc erfordern Ag-Lösung 1 Cc = 0,01 Na Cl.
10. 77	33,4	13,9	8,12
11.	—	14,2	8,15
12.	31,0	12,7	6,90
13.	30,1	13,7	5,90
14.	21,8	21,1	16,25
15.	29,3	29,9	23,3
16.	29,6	19,9	11,9
17.	30,0	14,5	6,2
18.	} 30,8	11,1	5,9
19.		13,7	7,3
20.	31,5	13,4	6,7